Aus der Abteilung Laboratoriumsdiagnostik
der Stoffwechsel- und Hormonkrankheiten
Direktor: Professor Dr. D. Gupta F.R.C. Path.
der Kinderklinik der Universität Tübingen

Die altersabhängige Wirkung von LH-RH bei intakten, ovarektomierten und östrogensubstituierten weiblichen Ratten während der sexuellen Reifung

INAUGURAL—DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
SUSANNE WALZ
aus Stuttgart-Degerloch

1983

Aus der Abteilung Laboratoriumsdiagnostik
der Stoffwechsel- und Hormonkrankheiten
Direktor: Professor Dr. D. Gupta F.R.C. Path.
der Kinderklinik der Universität Tübingen

Die altersabhängige Wirkung von LH-RH bei intakten, ovarektomierten und östrogensubstituierten weiblichen Ratten während der sexuellen Reifung

INAUGURAL—DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
SUSANNE WALZ
aus Stuttgart-Degerloch

1983

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan:	Professor Dr. W. Frommhold
1. Berichterstatter:	Professor Dr. D. Gupta
2. Berichterstatter:	Privatdozent Dr. E. Keller

gedruckt bei H.- J. Köhler · Reprografischer Betrieb · Tübingen

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

		Seite
1.	E i n l e i t u n g	1
1.1	LH-RH Definition und Funktion	1
1.2	Regulation der Sekretion von Sexualhormonen	2
1.3	Änderung der hormonalen Regulation in der Pubertät	7
2.	F r a g e s t e l l u n g	7
3.	M a t e r i a l i e n und M e t h o d e n	8
3.1	Allgemeiner Versuchsablauf	8
3.2	Versuchstiere	9
3.3	Narkose	9
3.4	Ovarektomie	10
3.5	LH-RH-Gabe	11
3.6	Serumgewinnung	14
3.7	Vaginalabstrich	14
3.8	Östrogeninjektion	15
3.9	Verwendete Substanzen und Materialien	15
3.10	Radioimmunassaymethode - Allgemein-theoretische Betrachtungen	18
3.11	Jodierung des Hormons	19
3.12	Nachreinigung	19
3.13	Messen der Radioaktivität	20
3.14	Test auf Bindung mit dem Antikörper (B_0-Bindung)	20
3.15	Die Radioimmunassay-Methode (Speziell)	20
4.	E r g e b n i s s e	22
4.1	Betrachtung des unterschiedlichen FSH-Sekretionsmodus nach LH-RH-Stimulation von intakten, ovarektomierten und östrogenblockierten Ratten einer Altersgruppe	22
4.1.1	Vergleich der Reaktion von 90 Tage alten Tieren in intaktem, ovarektomiertem und östrogen-blokkiertem Zustand	22
4.1.2	Vergleich der Reaktion von 56 Tage alten Tieren in intaktem, ovarektomiertem und östrogen-blokkiertem Zustand	24
4.1.3	Vergleich der Reaktion von 35 Tage alten Tieren in intaktem, ovarektomiertem und östrogen-blokkiertem Zustand	25

Seite

4.2 Betrachtung der unterschiedlichen FSH-Sekretion nach der Gabe von LH-RH in Abhängigkeit vom Alter der Tiere..... 26

4.2.1 Vergleich des Serum-FSH bei intakten Tieren im Alter von 35, 56 und 90 Tagen..... 26

4.2.2 Vergleich des Serum-FSH bei ovarektomierten Tieren im Alter von 35, 56 und 90 Tagen..... 28

4.2.3 Vergleich des Serum-FSH bei ovarektomierten und mit Östrogen blockierten Tieren im Alter von 35, 56 und 90 Tagen..... 30

4.3 Betrachtung des unterschiedlichen LH-Sekretionsmodus nach LH-RH-Stimulation von intakten, ovarektomierten und östrogen-blockierten Tieren einer Altersgruppe..... 32

4.3.1 Vergleich der Reaktion von 90 Tage alten Tieren in intaktem, ovarektomiertem und östrogenblockiertem Zustand..... 32

4.3.2 Vergleich der Reaktion von 56 Tage alten Tieren in intaktem, ovarektomiertem und östrogenblockiertem Zustand..... 34

4.3.3 Vergleich der Reaktion von 35 Tage alten Tieren in intaktem, ovarektomiertem und östrogenblockiertem Zustand..... 36

4.4 Betrachtung der unterschiedlichen LH-Sekretion nach der Gabe von LH-RH in Abhängigkeit vom Alter der Tiere..... 38

4.4.1 Vergleich des Serum-LH bei intakten Tieren im Alter von 35, 56 und 90 Tagen..... 38

4.4.2 Vergleich des Serum-LH bei ovarektomierten Tieren im Alter von 35, 56 und 90 Tagen..... 39

4.4.3 Vergleich des Serum-LH bei ovarektomierten und mit Östrogen blockierten Tieren im Alter von 35, 56 und 90 Tagen..... 41

4.5 Betrachtung des Verhältnisses FSH zu LH vor und nach der Stimulation mit LH-RH bei verschiedenen Altersgruppen der intakten, ovarektomierten und östrogen-blockierten Tiere..... 43

5. T a b e l l e n und A b b i l d u n g e n... 46

5.1 Tabellen..... 46

5.2 Abbildungen..... 51

6. D i s k u s s i o n und Z u s a m m e n f a s s u n g..... 72

Literaturverzeichnis..... 79

1. E i n l e i t u n g

1.1 LH-RH, Definition und Funktion

Synthese und Sekretion der hypophysären Gonadotropine FSH und LH wird mittels des hypothalamischen Freisetzungsfaktors LH-RH gesteuert. Umstritten ist bis heute, ob diese Regulation ausschließlich durch das bis jetzt einzig isolierte Dekapeptid erfolgt, oder ob noch eine weitere Freisetzungssubstanz existiert. Für das Vorhandensein nur eines einzigen Releasinghormons spricht die Tatsache, daß sowohl die FSH- als auch die LH-Sekretion durch diese Substanz stimuliert werden. Dagegen ist anzuführen, daß LH und FSH im Zyklus zeitlich differente Maxima und Verläufe aufweisen.

Zunächst wurden die Releasingfaktoren unter dem Begriff "hypophysiotrope Hormone" bekannt (Guillemin & Rosemberg 1955). Halasz und Mitarbeiter (Szentagothai et al. 1968) führten die Vorstellung einer "hypophysiotropic area" im Hypothalamus ein. Sie definierten sie als das Gebiet, in dem eingebrachtes Hypophysengewebe seine sekretorische Funktion durch das lokale Vorhandensein von hypophysiotropem Hormon beibehält. 1961 wurde LH-RH von Mc Cann und Mitarbeitern aus Eminentia mediana-Extrakten isoliert, ebenso unabhängig hiervon durch Harris. Schally et al. (Matsuo et al. 1971) gelang es dann, das Peptid zu decodieren.

Diese Entdeckung der Struktur von LH-RH und die relativ unkomplizierte Synthese von in der Pharmazie erhältlichen Analoga eröffneten eine neue Ära auf dem Gebiet der reproduktiven Endokrinologie. Es wurden bedeutende Erkenntnisse über die Faktoren gewonnen, die bei der Kontrolle der FSH- und LH-Sekretion eine Rolle spielen. So hatte man, bevor man synthetisches LH-RH zur Verfügung hatte, Hypophyse und Hypothalamus als eine Einheit angesehen. Es waren keine befriedigenden Möglichkeiten gegeben, zu unterscheiden, ob die Wirkung einer Substanz auf der Ebene der Hypophyse oder des Hypothalamus erfolgte.

1.2 Regulation der Sekretion von Sexualhormonen

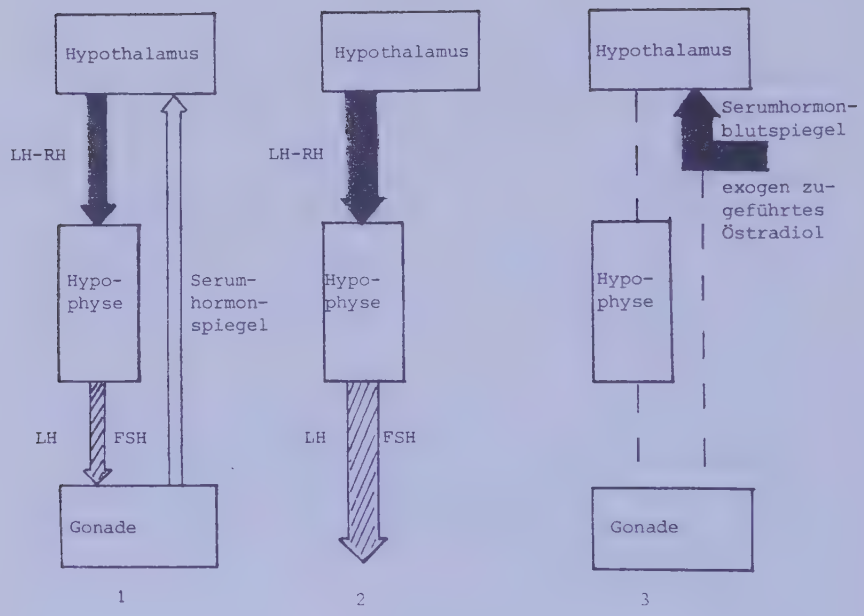
Gonaden, Hypophyse und Hypothalamus sind nicht hierarchisch einander übergeordnet, vielmehr stehen sie in einem dynamischen Gleichgewicht (Gupta 1974).

Diese Homöostase kommt dadurch zustande, daß zwischen dem Sexualhormonblutspiegel und der Funktion des Sexualzentrums im Zwischenhirn ein Rückkopplungsmechanismus besteht. Im Falle des FSH und des LH wird die Sekretion beider Gonadotropine durch einen negativen Feedback-Mechanismus gesteuert. Je höher der Steroidhormonblutspiegel, desto weniger Releasingfaktoren für Gonadotropine werden freigesetzt, und desto weniger FSH und LH werden aus dem HVL sezerniert. (Bloch 1971; Gay 1971; Swerdloff 1972 b u. 1973 b; Kalra 1973). Umgekehrt werden bei einem niedrigen Steroidhormonblutspiegel vermehrt Releasingfaktoren freigesetzt und als Folge dessen steigt die Gonadotropinsekretion an. Shin stellte 1975 den durch den Steroidmangel erhöhten LH-RH-Gehalt im Hypothalamus fest, Yamamoto (1970) und Amatayakul (1971) wiesen einen vermehrten hypophysären FSH und LH-Gehalt nach. Die infolge einer Zunahme der "gonadotropen Potenz der Hypophyse" (Hohlweg 1931) erhöhten Serum-FSH-und LH-Spiegel stellten folgende Autoren fest: (Ramirez 1963; Bloch 1971; Goldman 1971; Swerdloff 1971, 1972 a,b, 1973 a; Kalra 1973; Eldridge 1974; Rager 1975 b; Verjans 1974).

1934/35 fand Hohlweg, daß es nach einmaliger Östrogengabe an infantile Ratten zur Gelbkörperbildung in den Ovarien kommt. Als Ursache hierfür ist eine rasche Ausschüttung von in der Hypophyse gespeichertem LH festzustellen. Man spricht von einem positiven Feedbackmechanismus zwischen Östrogen und LH. Sawyer und Hilliard (1971) wiesen eine direkte Wirkung von Östrogen und Progesteron auf der Ebene der Hypophyse nach. Beide Sexualhormone beeinflußten die LH-Abgabe auf intrahypophysäre Infusion mit Eminentia mediana-Extrakten hin, indem sie diese stimulierten, bzw. hemmten. Hilliard et al. 1971 wiederholten diese Experimente mit Schallys LH-RH und kamen zu den gleichen Ergenissen. Weick und David-

son (1970) erreichten bei Ratten mit 5-Tage-Zyklen eine Ovulation von einem Tag Dauer durch die Implantation von Östrogen direkt in die Hypophyse. Im gleichen Labor senkten Smith und Davidson (1974) die LH-Blutspiegel von kastrierten Ratten durch das Einbringen von Östrogen in den Hypothalamus. Dieser Versuch änderte also die hypophysäre Empfindlichkeit für exogenes LH-RH nicht, durch die Implantation wurde dem "Thermostaten" ein hoher Steroidhormonblutspiegel simuliert. Ähnliche Ergebnisse berichteten Orias et al. (1974) die 5 ng Östrogenbenzoat in den dritten Ventrikel einbrachten. Bei der i.v. Injektion wird ein biphasiger Östrogeneffekt beschrieben. Zunächst erfolgt eine Unterdrückung der LH-Sekretion, die begleitet wird von einer geringeren Empfindlichkeit der Hypophyse für exogenes LH-RH. (Negro-Vilar et al. 1973; Blake et al. 1974).

Acht Stunden nach der Östrogengabe ist dann jedoch eine erhöhte Sensibilität der Hypophyse für LH-RH festzustellen (Libertun et al. 1974). Die Steigerung der hypophysären Empfindlichkeit für exogenes LH-RH nach Östrogenapplikation wurde von vielen Laboratorien berichtet, einschl. Schallys (Debeljuk et al. 1972).



Erläuterungen zum Regelkreis

Zu 1) Unter normalen Verhältnissen herrscht ein ausgewogenes Gleichgewicht zwischen der inkretorischen Funktion der Hypophyse und der Gonaden. Der "Thermostat", der dieses Gleichgewicht aufrecht erhalt, liegt im Hypothalamus.

Zu 2) Nach Ovarektomie entfällt die Bremswirkung der Sexualhormone auf den Hypothalamus. Die Folge davon ist eine vermehrte Bildung von Releasing-Faktoren für FSH und LH.

Zu 3) Die Gabe von Sexualhormon E_2 führt zu einer Bremswirkung auf den Hypothalamus und in der Folge werden weniger Gonadotropine sezerniert.

1.3 Änderung der hormonalen Regulation in der Pubertät

Hohlweg und Dohrn (Hohlweg 1936) postulierten eine Änderung der Empfindlichkeit eines Sexualzentrums für die Sexualhormone in der Pubertät. Aufgabe dieses Sexualzentrums war die Regulation der Gonadotropinsekretion (Hohlweg & Dohrn 1932). Eine stattliche Anzahl von Untersuchungen belegt heute die These, die davon ausgeht, daß der hypothalamische Gonadotropinregulationsmechanismus eines präpubertalen Tieres wesentlich mehr empfindlich ist für die negativen Feedback-Effekte der zirkulierenden Östrogene bzw. Androgene, als der von Erwachsenen. (Ramirez 1973; Davidson 1974; Critchlow & Bar-Sela; Donovan & Van der Werff ten Bosch 1965; Grumbach et al 1974).

Beim präpubertalen Individuum unterdrücken relativ niedrige Sexualhormonspiegel die LH-RH-Sekretion und damit die Abgabe von FSH und LH. Mit dem Näherrücken der Pubertät und der zunehmenden Reifung des ZNS kommt es dann zu einer Sensitivitätsabnahme der hypothalamischen Rezeptoren für das negative Feedback, es wird ein höherer Schwellenwert eingestellt. Hieraus resultiert eine vermehrte Sekretion von LH-RH. Infolgedessen steigen die Gonadotropinspiegel ebenfalls, es kommt zu einer vermehrten Bildung von Sexualhormonen und der Ausprägung der sekundären Geschlechtsmerkmale (Grumbach et al. 1974). Beim Einsetzen der Pubertät reicht also die bisher suffiziente Steroidmenge durch die Erhöhung des hypothalamischen Schwellenwertes für das negative Feedback nicht mehr aus. Die Folge ist eine vermehrte endogene LH-RH-Sekretion. Am Ende der Pubertät hat sich dann dieser Schwellenwert auf den des Erwachsenen eingependelt.

Ramirez & Mc Cann (1965) und Ojeda & Negro-Vilar (1974) zeigten, daß bei präpubertalen Ratten geringere Dosen von Testosteron notwendig waren um die LH-Abgabe zu unterdrücken, als bei erwachsenen Tieren. Dieser Versuch unterstützt die Annahme, daß es mit dem Eintritt der sexuellen Reife zu einer Zunahme des Schwellenwertes des "Gonadostaten" kommt.

Die These der "Differential Sensitivity" (Davidson 1974) gilt heute mit allen Einschränkungen als grundlegende Arbeitshypothese in der Pubertätsforschung (Ramirez 1963; Mc Cann 1964; Smith 1967; Bloch 1971; Negro-Vilar 1973; Eichner 1975; Gupta 1975 c).

2. Fragestellung

Unter Berücksichtigung der geschilderten Experimente möchte ich das System Hypothalamus-Hypophyse-Gonaden unter der folgenden Fragestellung näher untersuchen:

1. Besteht eine altersabhängig unterschiedliche Sensibilität der Hypophyse für exogenes LH-RH?
2. Sind unterschiedliche Effekte von LH-RH bei intakten, ovarektomierten und mit Östrogen blockierten weiblichen Ratten zu finden?

3. Materialien und Methoden

3.1 Allgemeiner Versuchsablauf

Gabe von 0,4 ng LH-RH pro 100 g Körpergewicht an

a) intakte weibliche Ratten
Von jeder Altersgruppe (35, 56 und 90 Tage) wurden 30 Tiere bestellt. Nach einer Akklimatisation von 4 Tagen, um den Transportstreß und neue Umgebungsbedingungen weitgehend auszugleichen, wurden jeweils alle 30 Tiere abgestrichen und auf dem Ohrläppchen mit einem Filzstift nummeriert. Die erhaltenen Vaginalabstriche bekamen die entsprechende Nummer und wurden nach der beschriebenen Methode gefärbt. Unter dem Mikroskop wurden die im Di-östrus bzw. Metöstrus befindlichen Tiere aussortiert. Es folgte dann bei diesen Tieren die Punktion der vena femoralis zur LH-RH-Gabe.

b) ovarektomierte Ratten
Alle drei Altersgruppen wurden in der beschriebenen Weise ovarektomiert. Bei den 35-Tage alten Tieren erfolgte die LH-RH-Gabe drei Tage nach der Kastration, die älteren Tiere wurden am vierten Tag post ovarektionem punktiert. Der Zeitpunkt für die LH-RH-Gabe wurde durch die Doktorarbeit von R. Hipp als "pilot-study" festgelegt.

c) ovarektomierte und mit Östrogen blockierte Ratten
Die Östrogenapplikation erfolgte bei allen drei Altersgruppen acht Stunden nach der Kastration intraperitoneal, die Stimulation mit LH-RH wiederum acht Stunden später.

Die Tiere wurden über 120 Minuten unter Äthernarkose am Leben erhalten. Innerhalb dieser Zeitspanne wurde 5, 10, 30, 60, 90 und 120 Minuten nach der LH-RH-Gabe aus der Butterfly Blut zur radioimmunologischen LH- und FSH-Bestimmung abgenommen. Von jeder Gruppe (intakt, kastriert und E_2-blockiert) gewannen wir die Werte von jeweils sechs Tieren pro Altersgruppe.

3.2 Versuchstiere

Die verwandten Tiere waren weibliche Albinoratten des Wistarstammes aus der Versuchstierzüchtungsanstalt Ivanovas (Kissleg, Allgäu). Sie wurden unter normalen Laboratoriumsbedingungen gehalten. Die Raumtemperatur betrug 20° C, die Tiere hatten freien Zugang zu Futter (Altrogge Spezialfutterwerk, Lage/Lippe, Altromin 1324) und Wasser.

3.3 Narkose

Ovarektomie und Punktion der vena femoralis erfolgten beide in der Äthernarkose. Das Inhalationsnarkotikum brachte im Vergleich zu einer zunächst angewandten Nembutalnarkose den Vorteil der besseren Steuerbarkeit von Dauer und Tiefe der Narkose. Die Einleitungsphase der Narkose wurde dadurch verkürzt, daß wir zunächst eine sehr viel höhere Ätherkonzentration auf das Tier einwirken ließen, als später zur Unterhaltung des Betäubungszustandes notwendig wurde. Hierzu verwandten wir ein weitgehend luftdicht abgeschlossenes Glasbehältnis mit einem Gitterboden. Auf den Gefäßboden wurde Äther geschüttet, das Tier auf den Gitterboden gesetzt, und so den bei Zimmertemperatur sich entwickelnden Dämpfen ausgesetzt. Nach Erreichen des Toleranzstadiums mit Abnahme des Muskeltonus und regelmäßiger Atmung wurde das Tier aus dem Gefäß genommen. Je nach Alter der Tiere und noch vorhandener Äthermenge auf dem Gefäßboden war die Zeit, die zur Erreichung der optimalen Narkosetiefe notwendig wurde, unterschiedlich. Durchschnittlich wurden drei bis fünf Minuten benötigt. Zur Aufrechterhaltung der Narkose während der Operation gaben wir einige Tropfen Äther auf einen Tupfer, legten die Schnauze des Tieres auf die feuchte Stelle und deckten anschließend den Kopf mit einem Deckelchen ab, um so ein zu schnelles Verflüchtigen der sich bildenden Ätherdämpfe zu verhindern. Es zeigte sich, daß die Analgesie bei dieser Narkosetechnik ausgezeichnet war. Der Muskeltonus war bei optimaler Dosierung schlaff, die Atmung

war regelmäßig der Kreislauf gut. Trat infolge Überdosierung ein Atemstillstand ein, so wurde bei noch intaktem Kreislauf künstlich beatmet, bis nach Abnahme der Wirkstoffkonzentration im ZNS die Spontanatmung wieder einsetzte. Die künstliche Beatmung erfolgte mittels einer Fahrradpumpe, in deren Ventil die Schnauze des Tieres gesteckt wurde. Nun wurde vorsichtig gepumpt (Gefahr des Setzens eines Pneumothorax). Die erfolgreiche Belüftung der Lungen wurde an den Thoraxbewegungen sichtbar. Mit Wiedereinsetzen der Spontanatmung wurde die künstliche Beatmung abgebrochen. Wurde die Narkose dagegen zu flach, d.h. kam das Tier in den Bereich des Excitationsstadiums mit unregelmäßiger Atmung, Muskelzuckungen und Zunahme des Muskeltonus, so gaben wir erneut einige Tropfen Äther auf den Tupfer. So war es uns möglich, durch gute Beobachtung der Atemtätigkeit die Tiere durch zusätzliche Äthergabe, oder, je nach Bedarf, durch zeitweiliges Aufdecken im Toleranzstadium zu halten. Nach Beendigung der Operation kamen die Tiere nach einigen Minuten wieder zu sich.

3.4 Ovarektomie

Nach Narkotisierung der Tiere wurden diese auf ein Brett gelegt. Der Zugang zu den Ovarien erfolgte von dorsal her. Zunächst wurde das untere Drittel des Rückens geschert. Es erfolgte dann ein Hautschnitt von ca. 2 cm Länge parallel zum Verlauf der Lendenwirbelsäule im Bereich L2 - L6. Die Haut wurde mit der Schere vom M. rectus abdominis abgespreizt, bis man lateral durch die Fascienschicht den den Ovarien anhängenden Fettkörper gelblich schimmern sah. In diesem Bereich, rechts lateral des M. psoas major, 7-12 mm unterhalb der Niere und ca. 15 mm von der Mittellinie bei L4 - L5 und links etwas tiefer, 3 - 5 mm unterhalb der Niere und ungefähr 11 mm von der Mittellinie bei L5 - L6 wurden die Ovarien durch einen Schnitt in die sie bedeckenden Muskelfascien und das Peritoneum mit einer chirurgischen Pinzette aus der bursa ovarica herausgezogen. Sie

stellten sich als ein je nach Alter der Tiere unterschiedlich großer, linsenförmiger, rötlicher Körper von unregelmäßiger Oberfläche dar. Abhängig von Alter und Zyklusstadium fanden sich Follikel, corpora lutea, umgeben von einem Saum von Parenchym und Fettgewebe. Der aufgewickelte Eileiter stellte sich als roter Schlauch dar, bedingt durch die zahlreichen Blutgefäße, die seine L. propria enthält. Je älter die Tiere waren, desto größere Ovarien und ein desto größerer Fettkörper wurde gefunden. Ein einziges Ovar eines erwachsenen Tieres wog ca. 60 mg. Das mit der Pinzette hervorgeholte Ovar wurde nun nach oben gezogen, sodaß der gewundene Eileiter sich in die Länge zog. Mit einem Ethiconfaden wurde der Eileiter im Bereich des unteren Drittels abgebunden, das Ovar mitsamt dem oberen Teil des Eileiters wurde abgeschnitten, der verbliebene Stumpf wurde wieder in der Tiefe versenkt. Nach beidseitiger Ovarektomie wurde die Wunde lediglich durch eine Hautnaht verschlossen. Je nach Länge des Schnittes waren drei oder vier Nähte notwendig. Wir verwandten wiederum Ethiconfaden. Nach der Operation wurden die noch narkotisierten Tiere in einen seperaten Käfig gelegt, damit sie nicht von ihren noch nicht operierten Artgenossen aufgefressen wurden. Diese Gefahr bestand vor allem, wenn die Operationsnaht blutverschmiert war. Die Tiere überstanden die Operation gut und zeigten äußerlich keinerlei Beeinträchtigung ihres Befindens.

3.5 LH-RH-Gabe

Zunächst erfolgte die Freipräparation der vena femoralis, um einen venösen Zugang mittels einer Butterfly zu bekommen. Nach der Injektion von 0,4 ng pro 100 g Körpergewicht LH-RH folgte eine Blutabnahme nach 5, 10, 30, 60, 90 und 120 Minuten. Das entnommene Volumen wurde durch ein 20:1-Gemisch von 0,9%igem NaCl und Vetren jeweils wieder ersetzt. Initial gaben wir reines Vetren zur Verhinderung einer Thrombenbildung in einer Dosis von 0,2 ml pro 100 g Körpergewicht.

Zur Freipräparation der vena femoralis wurde das Tier wie beschrieben narkotisiert und anschließend auf dem Rücken gelagert. Die Extremitäten wurden gespreizt und mit Kanülen auf der Unterlage fixiert. Wir begannen zunächst auf der linken Seite, da dort der anatomische Verlauf der Vene für die Punktion günstiger ist. Zunächst wurde die Haut an der Beugeseite der Leiste eingeschnitten und abgespreizt. Hierbei war eine zu der vena femoralis ziehende kleinere Vene zu beachten, die beim Wegklappen des Hautstückes leicht verletzt werden konnte. Die vena femoralis stellte sich nun aus der unteren Extremität kommend, auf einer Strecke von ca. 1 cm Länge, von Fascien bedeckt, dar. Dann verschwand sie in die Tiefe, in Richtung vena iliaca. Der sichtbare Bereich wurde von den Fascien befreit, da ansonsten die Butterfly leicht abglitt. Nach Möglichkeit ließen wir ein dünnes Häutchen auf der Vene, da dieses ihr einen gewissen Halt gab, der ein Wegrutschen des Gefäßes bei der Punktion verhinderte. Die Vene wurde nun mit Ethicon in einem Abstand von etwa 1/2 cm umstochen. Auch hier war es günstig, möglichst viel Gewebe mit der Nadel zu fassen. Es wurde nun eine Schleife gemacht, die aber nicht fest zugezogen wurde. Nun wurde die mit reinem Vetren gespülte Butterfly in die rechte Hand genommen, die Vene mit der linken festgehalten, etwas gedehnt, und dann mit leichtem Druck angestochen. Hierbei war es wichtig, rechtzeitig mit dem Druck nachzulassen, da sonst die Vene leicht perforierte. Die Schleife wurde nun über der Butterfly festgezogen und die Nadel durch einen zweiten Knoten fixiert, sodaß die Punktionsstelle möglichst luftundurchlässig war. Die Flügel der Butterfly wurden mit Kanülen festgesteckt, um ein Verrutschen zu verhindern. Bei guter Lage der Butterfly lief das Blut von selbst bis zum Anschlußstück vor. Lief das Blut schlecht, so lag die Nadel meist der Venenwand an, sodaß wir durch vorsichtiges Bewegen der Nadel genügend Blut bekamen. War die Punktion nicht erfolgreich, so wurde auf der rechten Seite ein zweiter Versuch unternommen. Um unnötigen Blutverlust zu vermeiden, ließen wir die erste Butterfly liegen. Auf der

rechten Seite stellten sich die anatomischen Verhältnisse ungünstiger dar, da die Vene vor ihrem Verschwinden in Richtung vena iliaca einen scharfen Knick macht. An dieser Stelle ist die Gefahr einer Perforation relativ groß. Auch ist die an der Oberfläche verlaufende Strecke kürzer als auf der linken Seite,sodaß man oft blind schieben mußte.Nach Fixation der Butterfly erfolgte nun ein vorsichtiges Ansaugen des Blutes mit einer Tuberkulinspritze, falls es noch nicht von selbst bis zum Anschlußstück der Butterfly geflossen war. Bevor wir die 0,2 ml pro 100 g Körpergewicht reines Vetren injizierten, gaben wir einige Tropfen unseres 20:1-Gemisches auf die Öffnung des Anschlußstückes, um auf jeden Fall Luft im Schlauch zu vermeiden. Zusätzlich zu der Vetrendosis pro Körpergewicht gaben wir noch 0,3 ml Vetren, die im Schlauch verblieben. Es wurde nun zwei Minuten gewartet, dann nahmen wir den Nullwert ab. Dieses Volumen wurde wie bei jeder folgenden Blutentnahme durch die gleiche Menge des Substitutionsgemisches ersetzt, nämlich 0,7 ml. Es wurde zuerst nur ein Teil der Substitution gegeben, bis das Anschlußstück gefüllt war und somit keine Luft enthielt. Anschließend erfolgte die Gabe der LH-RH-Dosis. Mit dem Rest der Substitution wurde nun nachgespritzt, da sonst der größte Teil des LH-RH im Schlauch verblieben wäre. Die zweite Blutabnahme folgte fünf Minuten nach der LH-RH-Gabe. Anschließend wurde wiederum substituiert. Die nächsten Blutentnahmen folgten nach 10, 30, 60, 90 und 120 Minuten. Nach Beendigung des Versuches wurden die Tiere durch das Setzen einer Luftembolie ad exitum gebracht. Bei den meisten Tieren hatten wir keine Schwierigkeiten, sie die notwendigen 120 Minuten am Leben zu erhalten. Die kritische Zeit waren die ersten zehn Minuten, in denen die Kreislaufbelastung durch die dreimalige Blutentnahme kurz hintereinander trotz Volumensubstitutuion sehr groß war. Wichtig war vor allem die sehr vorsichtige und sehr langsame Entnahme mit einer Tuberkulinspritze. Erstens, um einen zu raschen Entzug zu vermeiden, und zweitens wurde bei zu starkem Sog, z.B. mit einer 2 ml-Spritze, auch Luft aus der Punktionsstelle mit

angesogen. Auch war die Gefahr einer Hämolyse bei der Verwendung von Tuberkulinspritzen wesentlich geringer. Eventuell aus den Erythrozyten freiwerdende Proteasen hätten möglicherweise unsere LH und FSH Werte verfälscht. Ein Wegfallen des 120-Minuten-Wertes ergab sich einigemale dadurch, daß die Butterfly trotz Vetrengabe zu dieser Zeit nicht mehr durchgängig war. War schon der 90-Minuten-Wert aus diesem Grunde nicht mehr zu bekommen, so wurde die Nadel gezogen und aus der Punktionsstelle das hervorquellende Blut aufgesogen. Den 120-Minuten-Wert gewannen wir dann durch dekapitieren des Tieres und Auspressen des Rumpfes.

3.6 Serumgewinnung

Die gewonnenen sieben Blutröhrchen pro Ratte ließen wir ca. 12 Stunden im Kühlraum stehen. Nach dieser Zeit war die wegen des Vetrengehaltes verzögerte Gerinnung voll eingetreten. Die Proben wurden dann 15 Minuten bei 3500 U/Min. zentrifugiert, das Serum anschließend abpipettiert und in Plastikröhrchen bei -20° C eingefroren.

3.7 Vaginalabstrich

Bei den nicht ovarektomierten Tieren war es notwendig, festzustellen, in welchem Zyklusstadium sich die Tiere befanden. Wir konnten für unseren Versuch nur die Tiere verwenden, die sich entweder im Ruhestadium des Diöstrus befanden oder im Metöstrus, der dem Östrus folgenden Phase. Die Stadien des Proöstrus und des Östrus zeigen an sich schon erhöhte Werte für FSH und LH (FSH- Gipfel im Proöstrus und Östrus, LH-Gipfel im Proöstrus), sodaß die durch LH-RH-Stimulation gewonnenen Werte nicht aussagekräftig wären, da ein zuverlässiger Ausgangswert als Bezugspunkt fehlen würde. Das Zyklusstadium stellten wir mit Hilfe eines Vaignalabstriches fest. Je nach Zyklusstadium stellt sich der Ausstrich verschieden dar. Im Proöstrus enthält das Vaginalepithel drei Lagen. Die Äußere setzt sich aus Epithelzellen zusammen, mit mehr

oder weniger Schleim gefüllt. Unter diesem befindet sich das Stratum granulosum, das beim Eintritt in den Östrus zum Stratum corneum wird. Die dritte Lage ist das Stratum germinativum. Im Metöstrus werden die oberflächlichen Lagen des Stratum germinativum durch Leukozyten infiltriert. Später, im Diöstrus hat sich das Stratum granulosum gebildet, bestehend aus mehreren Zellagen unter der Oberfläche. Wir nahmen den Vaginalabstrich mit Q-Tips vor. Das gewonnene Material wurde auf Objektträgern ausgestrichen und getrocknet. Anschließend erfolgte die Färbung, zunächst für 10 Minuten in 1%igem Eosin, dann weitere 10 Minuten in einem Hämalaunbad. Nach dem Trocknen der Objektträger wurden unter dem Mikroskop die Abstriche der Ratten aussortiert, die sich im Metöstrus oder im Diöstrus befanden.

3.8 Östrogeninjektion

Das Hormon wurde mit reinem Olivenöl verdünnt, um technisch mögliche Mengen intraperitoneal zu injizieren. Die ovarektomierten Tiere bekamen jeweils 1 ng pro 100 g Körpergewicht Östrogen acht Stunden post ovarectionem.

3.9 Verwendete Substanzen und Materialien

Faden: Ethilon FS-2, EH 7506
Nadelhalter
Chirurgische Schere
Chirurgische und anatomische Pinzetten
Eosinrot 1 % (Abstrichfärbung)
Hämalaun (Abstrichfärbung)
Objektträger
Butterfly-21, INT (0,8 mm) 1/No. 4721 Luer
Östradiol VITIS Reg. Nr. O 572-2
Hersteller: Neopharma,8213 Aschau i. Chiemgau
Vetren-Ampullen mit jeweils 200 e.E. Heparin-Natrium/2ml
Hersteller: Promonta,Hamburg
Relefact LH-RH
Hersteller: Hoechst,Frankfurt

Fa. MERCK, Darmstadt

Dinatriumhydrogenphosphat x 2 H_2O	Nr. 6580
Natriumdihydrogenphosphat x 2 H_2O	Nr. 6345
Natriumchlorid	Nr. 6404
Kaliumjodid Neutral	Nr. 5043
Äthylendinitrilotetraessigsäure	Nr. 8436
Chloramin T (Trihydrat)	Nr. 2426
Natriumpyrosulfit	Nr. 6528
Chloroform	Nr. 2445
Bromphenolblau	Nr. 8122
Äther (Narkose)	Nr. 921

Fa. SERVA-Feinbiochemika, Heidelberg

Saccharose reinst	Nr.35580
Äthylmercurithiosalicylsäure	Nr.11375

Fa. BERINGWERKE, Marburg/Lahn
Rinderserumalbumin

Fa. WELLCOME Reagents Ltd., Beckenham, England
Rabbit Serum inactivated
Precipitation Serum for Radio-immunoassay
(Anti-Rabbit-Gamma-Globulin)

Fa. RADIOCHEMICAL CENTRE, Amersham
Jod - 125 (Na-Salz) IMS. 30

Fa. FARBWERKE HOECHST AG, Frankfurt
Synthetisches LH-RH

NATIONAL INSTITUTE OF ARTHRITIS AND METABOLIC DISEASES AND DISORDERS (NIAMDD), Bethesda MD., USA
Purified Rat Luteinizing Hormone
(NIAMDD-Rat LH-I-3)
Antiserum to Rat Luteinizing Hormone
(NIAMDD-Anti Rat LH Serum-1)
Reference Preparation
(NIAMDD-Rat LH-RP-1)
Purified Rat Follicle Stimulating Hormone
(NIAMDD-Rat FSH-I-1)
Antiserum to Rat Follicle Stimulating Hormone
(NIAMDD-Anti-Rat FSH-Serum-6)

Reference Preparation
(NIAMDD-Rat FSH-RP-1)

Elutionspuffer für die Jodierung: pH 7,6

13,2 ml 0,1 M $NaH_2PO_4 \times 2H_2O$
+ 86,8 ml 0,1 M $Na_2HPO_4 \times 2H_2O$
+ 8,7 g NaCl = 0,15 M
+ 100 mg Merthiolat = 0,01 %
ad 1 l H_2O dest. = 0,01 M Phosphatpuffer

Diluent: pH 7,6

Elutionspuffer für die Jodierung
+ 1%iges Rinderserumalbumin

Stammpuffer: pH 7,6

3,45 g $NaH_2PO \times 2H_2O$
+ 0,8737 g $Na_2HPO_4 \times 2H_2O$
pH Angleich mit 1 N NaOH ad 500 ml H_2O dest.

Assaypuffer: pH 7,6

Elutionspuffer für die Jodierung

+ 18,6 g EDTA
+ 3,0 ml Rabbitserum ad 1 l H_2O dest.

Transferlösung:

1 % KJ
+ 16 % Sucrose in P 1
+ Bromphenolblau (Spur)

2%ige BSA Lösung:
2g Rinderserumalbumin in Elutionspuffer für die Jodierung

3.10 Radioimmunassaymethode - Allgemein-theoretische Betrachtungen -

Die aus mehreren verschiedenen Amminosäurebausteinen aufgebauten Proteohormone sind in eiweißhaltigem Milieu, wie dem Blutplasma mangels spezifischer Gruppen nicht bestimmbar. Ganz im Gegensatz zu den Steroidhormonen (wie z.B. Corticosteroide, Gestagene (C_{21}-Steroide) Antrogene (C_{19}-Steroide) Östrogene (C_{18}-Steroide), die aus den Körperflüssigkeiten extrahiert, gereinigt und dann mit analytischen Reagenzien in spezifischen Reaktionen nachgewiesen werden können.

Die Radioimmunassaymethode ist wie folgt aufgebaut:
In einem immunologischen System wird das Antigen von einem hochspezifischen globulären Proteinmolekül, dem Antikörper, erkannt und in einem Komplex aus beiden Molekülen gebunden. Bei der Bestimmung von physiologischen Konzentrationen von Proteohormonen wird die Austauschbarkeit eines (z.B. radioaktiv) markierten Antigens im Antigen-Antikörper-Komplex durch ein unmarkiertes Antigen ausgenutzt. Es besteht ein Wettbewerb zwischen "kaltem" unmarkiertem Hormon und radioaktiv markiertem Hormon um die Bindungsstelle des spezifischen Antikörpers .

^{125}J - Hormon + "kaltes" Hormon $\overset{(F)}{+}$ Antikörper $\rightarrow$ ^{125}J - Hormon - Ab (B) + "kaltes" Hormon - Ab

Durch hinzufügen von "kaltem" Hormon wird das Verhältnis von freiem, markiertem Hormon (F) zu gebundenem markiertem Hormon (B) zugunsten von freiem markiertem Hormon (F) verschoben. B : F wird kleiner.

Für die mengenmäßige Bestimmung eines Hormons in einer Probe wird mit einem zweiten Ansatz verglichen, in welchem Standardverdünnungen mit bekannten Mengen von unmarkiertem Hormon eingesetzt werden. Das Ergebnis dieses zweiten Ansatzes, die mit größer werdenden Konzentrationen von kaltem Hormon

kleiner werdenden Verhältnisse B : F, wird graphisch aufgetragen: Man erhält die Standardkurve.

3.11 Jodierung des Hormons (Chloramin-T-Methode)

Reihenfolge des Pipettierens bei der Jodierung

1. 2 ug (normalerweise in 20 ul Puffer) des Hormons
2. 20 ul des 0,5 M Phosphatpuffers
3. 0,5 mCi J^{125} (entsprechen normalerweise 5 ul Lösung)
4. 10 ul Chloramin T (125 mg in 50 ml 0,01 M Phosphatpuffer gelöst)
5. Reaktionszeit 1 Minute; dabei auf einem Schüttelgerät (Typ Rotamixer, Fa. Hock + Tucker HT) schütteln.
6. 30 ul Natriumpyrosulfit (125 mg in 50 ml 0,01 M Phosphatpuffer gelöst)
7. 100 ul Transferlösung
8. Übertragung des Reaktionsgemisches auf die Sephadexsäule (G-75-Füllung)
9. Reaktionsgefäß mit 2 mal 20 ul 2 % BSA Lösung nachspülen und ebenfalls auf die Sephadexsäule übertragen.
10. Sephadexsäulenfüllung mit 0,01 M Phosphatpuffer eluieren
11. Fraktionen von je 1 ml sammeln (Vorlage: 0,5 ml 2% BSA-Lösung)

Aus der Verteilung der Radioaktivität in diesen Fraktionen ergibt sich die Elutionskurve. Der Hauptpeak stellt das radioaktiv markierte Hormon dar, während der zweite Peak, auch Salzpeak genannt, Bruchstücke des Hormons, Verunreinigungen sowie freies radioaktives Hormon darstellt.

3.12 Nachreinigung

Herstellen einer Sephadexsäule (G-200) Füllhöhe ca. 30 bis 35 cm. Der Inhalt von zwei bis drei Röhrchen des Peak I der Elution nach der Jodierung werden aufgetragen und mit 0,01 M Phosphatpuffer eluiert (Tropfgeschwindigkeit ca. zwei Tropfen pro Minute). Zur Verminderung der Adsorption an der

Glaswand des Auffangröhrchens wurde eine Spatelspitze BSA-Pulver vorgegeben. Der Inhalt von vier bis fünf Röhrchen des Peak I der ersten Nachreinigung wurden einer zweiten derartigen Reinigung unterworfen.

3.13 Messung der Radioaktivität

Die Radioaktivität wurde in einem Gamma-Zähler (Typ Packard Auto Gamme Scintillation Spectrometer Nr. 5160) wie folgt gemessen: Die ausgestrahlten Impulse wurden über einen Zeitraum von 200 Sekunden hinweg registriert und als Counts gezählt. Die Summe der ständig registrierbaren Strahlen wurde als background von jedem Meßergebnis der Proben subtrahiert.

3.14 Test auf Bindung mit dem Antikörper (B_0-Bindung)

Da das radioaktive Hormon durch den Markierungsprozeß und vielerlei anderen physikalischen und chemischen Ereignissen denaturiert bzw. immunologisch verändert sein kann, ist ein Test auf die immunologische Funktionsfähigkeit nötig. Als B_0-Bindung bezeichnet man die Bindung an den Antikörper, die in der nicht kompetitiven Situation, also ohne die Anwesenheit des "kalten" Hormons gefunden wird. Diese B_0-Bindung ist konzentrationsabhängig.

3.15 Die Radioimmunassay-Methode (Speziell)

Im wesentlichen wurden die vom National Institute of Health/ Bethesda Md., USA gegebenen Richtlinien übernommen. Die folgenden Schritte wurden der Reihenfolge nach durchgeführt.

1. Plastik-Reagenzröhrchen zum einmaligen Gebrauch wurden als Assay-Röhrchen verwendet.
2. Diluent (in genügender Menge für ein Gesamtreaktionsvolumen von 800 ul) wurde zugegeben.
3. a) Weiter wurde das zu untersuchende Serum (100 bzw.200 ul) zugegeben oder

b) die Standardverdünnung der Reference Preparation von 500 ng bis 2,5 ng in solchen Zwischenstufen, daß eine Standardkurve gezeichnet werden konnte.

4. Zugabe von 200 ul des Antiserums gegen das jeweils zu messende Hormon in einer Arbeitsverdünnung von 1:10 000 bis 1:15 000 in mit 3%igem normalem rabbit-Serum versetzten Phosphatpuffer.
5. Dieses Gemisch wurde auf einem Rotamix-Schüttler kurz aufgeschüttelt und 24 Stunden bei 4^{o}C inkubiert.
6. 100 ul jodiertes Hormon in einer Verdünnung von 40 000 counts pro 200 Sekunden wurde dazugegeben.
7. Nach kurzem Schütteln des Reaktionsgemisches wurde 24 Stunden bei 4^{o} C inkubiert.
8. Nach dieser Zeit wurden 200 ul genügend (meist 1:12) verdünntes Anti-rabbit-gamma-Globulin dazugegeben, um die maximale Präzipitation des an den Antikörper gebundenen Hormons zu erreichen. Verdünnung mit 0,01 molarem Phosphatpuffer.
9. Nach kurzem Schütteln des Gemisches wurde drei Tage bei 4^{o} C inkubiert.
10. Zentrifugation bei 2000 x g für 2 Stunden. Der Überstand wurde abgekippt. Das Präzipitat in einem Packard bzw. Tracerlab Gammazähler gezählt.
11. Die Röhrchen mit den unbekannten Mengen des Hormons wurden mit den counts der Standardverdünnung der Reference Preparation verglichen. Dazu wurde graphisch eine Kurve dieser Standardwerte konstruiert und die Werte der unbekannten Proben direkt aus dieser Kurve abgelesen oder mittels Lochstreifen im Computer ausgewertet. Die Ergebnisse wurden als ng NIAMDD-Rat LH-RP-1 bzw. ng NIAMDD-Rat FSH-RP-1 per ml Serum ausgedrückt.

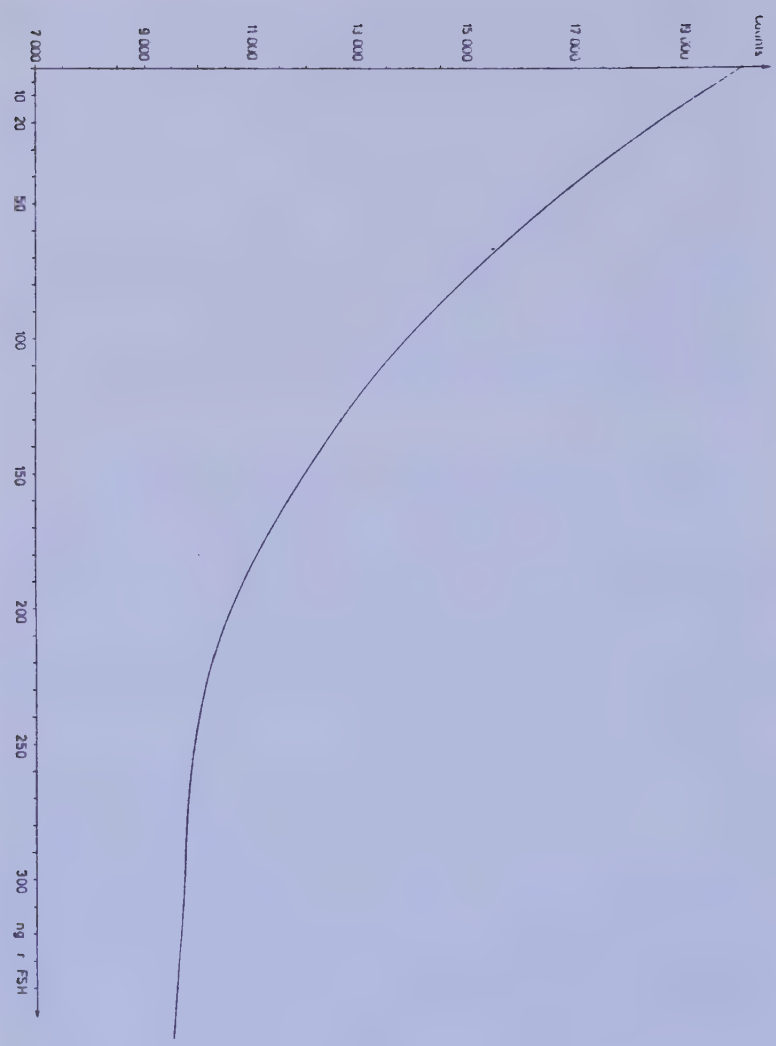


Abb. 22: FSH-Standardkurve

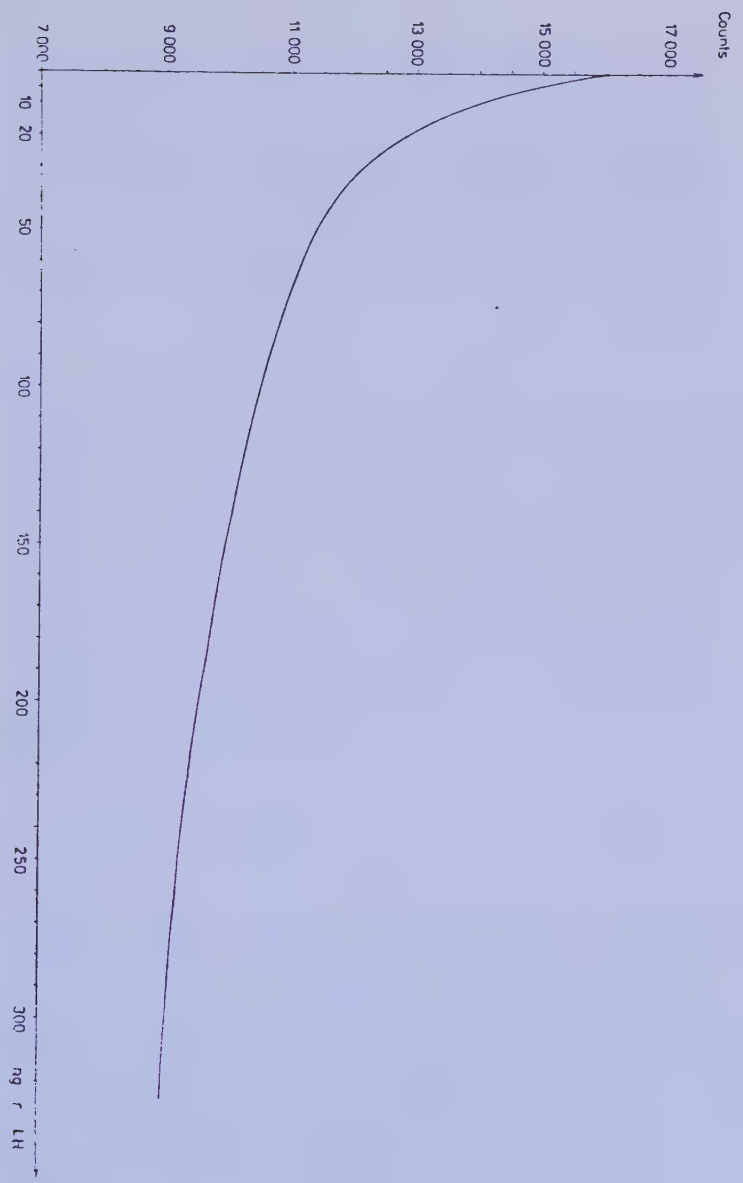


Abb. 23: LH-Standardkurve

4. Ergebnisse

4.1 Betrachtung des unterschiedlichen FSH-Sekretionsmodus nach LH-RH Stimulation von intakten, ovarektomierten und Östrogen-blockierten Ratten einer Altersgruppe

4.1.1 Vergleich der Reaktion von 90 Tage alten Tieren in intaktem, ovarektomiertem und östrogen-blockiertem Zustand

In den ersten 10 Minuten nach der LH-RH-Stimulation kommt es bei den intakten Tieren zu einem Abfall des FSH-Serum-Spiegels bis zu 68 %. Sodann erfolgt ein langsamer Anstieg des Hormonspiegels. Im Gegensatz hierzu sind bei den mit Östrogen blockierten Tieren von Anfang an positive Anstiegswerte zu finden. Während die intakten Tiere praktisch erst im 30 bis 60 Minutenintervall eine Steigerung ihrer Serumwerte für FSH aufweisen, und zwar um 24,4 %, erreichen die mit E_2 behandelten Tiere zu diesem Zeitpunkt bereits einen Anstiegswert von 46 %. In den letzten 60 Minuten nähern sich dann die prozentualen Anstiegswerte der intakten Tiere denen der mit Östrogen blockierten Tiere bis auf einen unbedeutenden Differenzbetrag:

90 Min.Wert: intakte: 55,5 % ovex+E_2 : 56,9 %
120 Min.Wert: intakte: 68,8 % ovex+E_2 : 73,0 %

Es wird deutlich, daß die intakten Tiere auf die Stimulation wesentlich träger ansprechen als die östrogen-blockierten Tiere. Nach dem Überwinden dieser initialen Reaktionsträgheit erreichen beide Gruppen praktisch dieselbe Steigerungsfähigkeit, allerdings im Bereich völlig differenter Absolutwerte. Vergleicht man die FSH-Spiegel der intakten Tiere mit denen der östrogen-blockierten Tiere vor der Stimulation mit LH-RH, so ist zu sehen, daß die Östrogenapplikation zu einem Anstieg des FSH-Spiegels um 188 % führte. Die Östrogengabe hatte also einen positiven Feedback-Effekt auf das System Hypophyse-Hypothalamus, indem eine vermehrte endogene LH-RH Sekretion mit konsekutiver FSH-Mehrproduktion

und Mehrsekretion induziert wurde. Für eine vermehrte FSH-Produktion spricht die Tatsache, daß die mit Östrogen blokkierten Tiere auf die LH-RH-Gabe hin einen Nettobetrag von 475 ng pro ml FSH mobilisieren, gegenüber nur 155 ng pro ml FSH der intakten Tiere im selben Zeitraum. Neben diesem positiven Feedback-Effekt bezüglich der FSH-Produktion und Sekretion führte das zugeführte Östrogen zu einer vermehrten Sensibilität der Hypophyse für LH-RH. Die gegebene Östrogenmenge scheint die bei den intakten Tieren vorhandene initiale Reaktionsträgheit auszugleichen, sodaß nach der Stimulation die FSH-Abgabe sofort kräftig einsetzt. Die Tatsache, daß aber insgesamt keine Erhöhung der prozentualen Steigerung in den gemessenen 120 Minuten möglich ist, führt zu der Annahme, daß schon bei der physiologisch vorhandenen Östrogenmenge der intakten Tiere die maximale Ausnutzung des positiven Feedback zwischen Östrogen und LH-RH stattfindet. Die pharmakologische Östrogendosis erhöhte nur die Sensibilität der Hypophyse für diesen Effekt. Somit kann nur die durch die initiale Reaktionsträgheit der intakten Tiere entstandene "Anstiegslücke" ausgefüllt werden, die hypophysäre Potenz an sich kann nicht weiter gesteigert werden.

Abgesehen von den ersten 5 Minuten liegen die prozentualen Anstiegswerte der kastrierten Tiere stets unter denen der mit Östrogen behandelten. Nach der ersten Stunde werden sie dann auch von den wie schon erwähnt sehr träge reagierenden intakten Tieren überholt. Während die intakten und die östrogen-blockierten Tiere im letzten Zeitintervall noch sehr kräftige Steigerungen ihrer FSH-Serumkonzentration aufweisen, zeigen die kastrierten Tiere bereits einen Rückgang ihres Anstiegswertes. Die Reaktion auf die LH-RH-Gabe erfolgt bei den ovarektomierten Tieren prompt, insgesamt liegen sie jedoch mit ihren prozentualen Anstiegswerten unter den Tieren mit Östrogen. Die Kastration führte also zu einer vermehrten hypophysären Sensibilität für LH-RH, die Ausschüttungskraft insgesamt ist im Vergleich zu den anderen Gruppen jedoch vermindert.

Mit einem Serum-FSH-Spiegel von 1060 ng pro ml FSH vor der Stimulation, der um 371% über dem Nullwert der intakten Tiere liegt, zeigen die kastrierten Tiere deutlich die Auswirkungen des Wegfallens der Bremswirkung der gonadalen Steroide auf die FSH-Sekretion. Auf die Stimulation mit LH-RH hin sind die intakten Tiere in der Lage, ihren Serumspiegel auf 1580 ng pro ml FSH zu erhöhen, was eine Mobilisierung von 520 ng pro ml FSH bedeutet. Weder die intakten, noch die mit Östrogen behandelten Tiere setzen auf die Stimulation hin einen so großen Nettobetrag FSH frei, d.h. die kastrierten Tiere verfügten über den größten hypophysären FSH-pool. Der positive Feed-back Effekt der Östrogene führte zwar nicht zu einem ebenso großen pool-Volumen wie die Kastration, jedoch zu einer erheblich größeren hypophysären Sensibilität.

4.1.2 Vergleich der Reaktion von 56 Tage alten Tieren in intaktem, ovarektomiertem und östrogen-blockiertem Zustand

Nur die mit Östrogen blockierten Tiere weisen in allen Zeitintervallen positive prozentuale Anstiegswerte ihrer FSH-Serumkonzentration auf. Nach 120 Minuten erzielen sie eine Steigerung um insgesamt 91 %. Auf diese Weise werden bei einem Serum-Nullwert von 670 ng pro ml FSH und einem Maximalwert von 1280 ng pro ml FSH 610 ng pro ml FSH mobilisiert. Die Östrogenapplikation führte zu einem Anstieg des Serumspiegels um 109 % im Vergleich mit den intakten Tieren. Dies ist als Folge des positiven Effektes des zugeführten Östrogens zu interpretieren. Ebenso der auf die LH-RH-Gabe hin mobilisierte Nettobetrag von 610 ng pro ml FSH gegenüber nur 260 ng pro ml FSH bei den intakten Tieren. Der Östrogen-Effekt liegt somit in einer Vergrößerung des hypophysären FSH-pools und in einer Zunahme der hypophysären Sensibilität für LH-RH. Diese Zunahme der Sensibilität ist vor allem eine zeitliche. Auch die intakten Tiere erreichen sehr hohe prozentuale Steigerungswerte ihrer Serum-

konzentration (81,25 % im 30 - 60 Minutenintervall). Sie erreichen diesen Wert jedoch im Gegensatz zu den östrogen-blockierten Tieren nach anfänglich negativen Werten. Nach diesem hohen Steigerungswert folgt dann ein starker prozentualer Abfall, während die mot Östrogen behandelten Tiere von Anfang bis zum Ende des gemessenen Zeitintervalls kontinuierlich ansteigen. Somit scheint die hohe Östrogendosis für ein sensibleres Reagieren der Hypophyse auf den Stimulationsreiz zu sorgen. Im Verlaufe der 120 Minuten kommt dann auch der durch die Östrogenapplikation bedingte größere FSH-Pool zum Tragen. Die maximale Steigerungsfähigkeit der FSH-Konzentration liegt bei den östrogen-blockierten Tieren um 10 % über der der intakten Tiere. Hieraus ist zu schließen, daß die physiologisch vorhandene Östrogenmenge noch keine vollständige Ausnutzung des positiven Feed-back gewährleistet. Demzufolge ist mit der höheren applizierten Dosis eine Steigerung dieses Effektes möglich, wenn auch in geringem Maße. Verglichen mit den Steigerungswerten der intakten und der mit Östrogen blockierten Tiere weisen die kastrierten Tiere insgesamt geringere prozentuale Anstiegswerte der FSH-Konzentration auf und zeigen geringe Schwankungen. Nach einem initialen Abfall des Serumspiegels nach der LH-RH-Gabe kommt es zu einem peak nach 30 - 60 Minuten. Infolge der Kastration kam es zu einem Anstieg des Serum-FSH um 268 %, bei der Stimulation mit LH-RH wurden 270 ng/ml FSH mobilisiert.

4.1.3 Vergleich der Reaktion von 35 Tage alten Tieren in intaktem, ovarektomiertem und mit Östrogen blockiertem Zustand (Abb.9)

Wiederum weisen nur die mit Östrogen behandelten Tiere auf die Stimulation mit LH-RH hin einen kontinuierlichen Anstieg ihrer Serumkonzentration auf. Die intakten und die kastrierten Tiere zeigen einen initialen Abfall ihrer Serumkonzentration. Der dann folgende Anstieg der FSH-Werte führt dann zu einem peak. Dieser Kurvenverlauf ist bei den intakten

Tieren wiederum wesentlich extremer als bei den ovarektomierten. Anstieg und Abfall erfolgen wesentlich steiler, der peak wird eine halbe Stunde eher erreicht, und zwar mit einer viel größeren prozentualen Steigerung. Im 10 - 30 Minutenintervall weisen die intakten und die mit Östrogen blockierten Tiere praktisch gleiche prozentuale Steigerungswerte auf. (47,6 % und 48,0 %)

In dieser Altersgruppe kommt es nun bei den mit Östrogen behandelten Tiere zu einem weiteren Anstieg des Serum-FSH, während es bei den intakten Tieren abfällt. Dies bedeutet, daß die physiologisch vorhandene Östrogenmenge bei weitem nicht ausreicht, um den positiven Feed-back zwischen Östrogen und LH-RH voll zum Tragen zu bringen. So ist mit der zugeführten Östrogenmenge eine weitere Steigerung des Serum-FSH zu erzielen, und zwar um maximal 75 %. (48,0 % bei den intakten Tieren)

Die Hypophyse ist in diesem Alter also voll sensibel für den positiven Feed-back, nur fehlt die für eine maximale Antwort notwendige Östrogenmenge. Für die voll ausgereifte Sensibilität der Hypophyse spricht auch die Tatsache, daß auf die Stimulation hin ein Nettobetrag von 640 ng/ml FSH mobilisiert werden kann. Es war also infolge des positiven Feed-back Effektes ein großes Pool-Volumen vorhanden.

Die Östrogenapplikation führte zu einem Anstieg des FSH-Spiegels um 102 % gegenüber den intakten Tieren. Die Kastration erhöhte den Serumspiegel um 238 %, auf die LH-RH-Gabe hin mobilisierten diese Tiere 400 ng/ml FSH.

4.2 Betrachtung der unterschiedlichen FSH-Sekretion nach der Gabe von LH-RH in Abhängigkeit vom Alter der Tiere

4.2.1 Vergleich des Serum-FSH bei intakten Tieren im Alter von 35, 56 und 90 Tagen (Abb. 1 u. 2)

Betrachtet man die Absolutwerte, so sieht man, daß es bei allen Altersgruppen zu einem initialen Abfall der FSH-Serumkonzentration kommt. Die 35 Tage alten Tiere erreichen hier-

bei den niedrigsten Serumspiegel nach 5 Minuten, die älteren Tiere nach 10 Minuten. Nach der Stimulation mit LH-RH zeigen die Kurvenverläufe für FSH bei den 35 und 56 Tage alten Tieren einen peak, während die Werte der 90 tägigen Tiere bis zum letzten gemessenen Wert ansteigen. Die 35 Tage alten Tiere erreichen ihren peak nach 30 Minuten, die 60 tägigen nach 60 Minuten. Betragsmäßig unterscheiden sich beide Maxima nur unwesentlich (35tägige: 620 ng/ml FSH, 56tägige: 580 ng/ml FSH).

Interessant ist jedoch, daß die prozentualen Steigerungswerte der FSH-Konzentration, die notwendig sind, um diese peak-Werte zu erreichen, erheblich differieren. Während den 35 Tage alten Tieren eine Steigerung ihres Serumspiegels um 47,6 % genügt (höherer Ausgangswert), um den maximalen FSH-Wert zu erreichen, müssen die 56 tägigen Tiere zu einer Steigerung ihres Serumspiegels um 81,25 % in der Lage sein, um die fast gleiche Serumkonzentration zu erreichen. Hieraus ist zu schließen, daß die Hypophyse der 56 Tage alten Tiere ein erhebliches mehr an FSH gespeichert hat als die jüngeren Tiere. Dies wird auch beim Vergleich der infolge der LH-RH-Stimulation freigesetzten Nettobeträge FSH deutlich. Während die 35 Tage alten Tiere 200 ng/ml FSH aus ihrem hypophysären pool, bzw. aufgrund von Neusynthese mobilisieren, sind dies bei den 56 Tage alten Tieren 260 ng/ml FSH.

Weist die Hypophyse der 56 tägigen Tiere eine größere Kapazität auf als die der jüngeren Tiere, so reagiert diese wesentlich sensibler auf die Stimulation mit LH-RH. Wie schon erwähnt, erreichen die jüngeren Tiere ihren peak 30 Minuten eher, der initiale Abfall des FSH-Serumspiegels erfolgt ebenfalls steiler. Nach dem Prinzip eines "Alles oder Nichts-Gesetzes" wird die mobilisierbare FSH-Menge sofort freigesetzt, während die 56 tägigen Tiere träger auf die Stimulation reagieren und so den fast gleichen Maximalwert eine halbe Stunde später erreichen.

Die Reaktion der 90 tägigen Tiere erfolgt am langsamsten. n den ersten 60 Minuten nach der LH-RH-Gabe liegen sie mit ihren prozentualen Anstiegswerten deutlich unter denen der jüngeren Tiere. So beträgt im 10 - 30 Minutenintervall der Anstieg des FSH bei den 35 Tage alten Tieren 47,6 % des Ausgangswertes, bei den 56 tägigen Tieren 12,5 %, während er bei den 90 Tage alten Tieren noch 0 % beträgt. In den folgenden 60 Minuten liegen dann die Steigerungswerte der ältesten Tiere über denen der jüngeren. Ursache hierfür ist wohl das bei den 90 Tage alten Tieren vorhandene größere Pool-Volumen.

Diese Ergebnisse zeigen, daß die Tiere mit zunehmendem Alter mehr Zeit benötigen, um maximal auf den Stimulationsreiz mit LH-RH zu reagieren. Die Reaktion der Hypophyse ist träger, der peak verschiebt sich auf der Zeitachse immer weiter nach rechts. Da die Kurve für den FSH-Blutspiegelverlauf bei den 90 tägigen Tieren keinen peak aufweist und im letzten gemessenen Zeitintervall noch ein kräftiger Anstieg der Serumkonzentration zu verzeichnen ist (68 %), ist anzunehmen, daß die Tiere ihren peak erst jenseits der von uns gemessenen 120 Minuten erreichen. Der innerhalb dieser Zeit auf die Stimulation hin mobilisierte Nettobetrag von 155 ng/ml FSH ist somit wohl nur als ein Bruchteil der tatsächlich mobilisierbaren FSH-Menge anzusehen.

4.2.2 Vergleich des Serum-FSH bei ovarektomierten Tieren im Alter von 35, 56 und 90 Tagen (Abb. 3 u. 4)

Die FSH-Spiegel vor der Stimulation mit LH-RH liegen deutlich über denen der intakten Tiere. Infolge des Ausschaltens des negativen Feed-back-Effektes der ovariellen Steroide durch die Ovarektomie erfolgte ein mit zunehmendem Alter der Tiere stärkerer Anstieg des FSH-Serum-Spiegels. Bei den 90 Tage alten Tieren kam es zu einem Anstieg um 371 %, bei den 56 tägigen stieg die FSH-Konzentration um 268 %, bei den 35 tägigen um 238 %. Die Kastration wird also mit zunehmendem Alter der Tiere effizienter, da ein größeres

Pool-Volumen freigesetzt werden kann.

Betrachtet man den Kurvenverlauf des Serum-FSH, so zeigt sich bei allen Altersgruppen ein peak, allerdings von unterschiedlicher Ausprägung. Bei den 35 Tage alten Tieren zeigt er sich deutlich nach 60 Minuten, bei den 56 tägigen im 60 - 90 Minutenintervall, bei den 90 tägigen sehr schwach ausgeprägt nach 90 Minuten. Wie bei den intakten Tieren zeigen auch hier die 35 Tage alten Tiere die schnellste Reaktion auf die Stimulation mit LH-RH. Ihr nach 60 Minuten erreichter peak-Wert von 1820 ng/ml FSH wird von den anderen Altersgruppen bei weitem nicht erreicht (90 tägige: 1580 ng/ml FSH,56 tägige: 1450 ng/ml FSH). Die hohen Serum-FSH-Werte sowohl vor als auch nach der Stimulation mit LH-RH bei den 35 tägigen Tieren finden sich ebenfalls bei den intakten Tieren dieser Altersgruppe.

Die prozentualen Anstiegswerte der FSH-Konzentration pro Zeitintervall zeigen, daß die Hypophyse der 90 Tage alten Tiere zur größten Steigerung des FSH-Blutspiegels in der Lage ist, nämlich um 49 %. Die beiden anderen Altersgruppen sind dagegen nur zu einer Steigerung des FSH-Spiegels um 20 bis 30 % in der Lage. Die mobilisierten Nettobeträge sind 520 ng/ml FSH bei den 90 tägigen, 270 ng/ml FSH bei den 56 tägigen und 400 ng/ml FSH bei den 35 tägigen Tieren. Die Tatsache, daß die 90 Tage alten Tiere die größte Hormonmenge mobilisieren, erklärt sich aus dem großen hypophysären Pool-Volumen dieser Altersgruppe. Ein Hinweis auf ein großes Reservepotential an FSH war auch der enorme Anstieg des FSH-Blutspiegels auf die Kastration hin. Die 56 Tage alten Tiere setzen dagegen auf die LH-RH-Gabe hin nur etwa die Hälfte an FSH frei. Die 35 tägigen Tiere mobilisieren mit 400 ng/ml FSH wieder deutlich mehr. Der Kastrationseffekt war in beiden Altersgruppen mit 238 % und 268 % etwa gleich. Dies bedeutet, daß ein ungefähr gleich großes Pool-Volumen durch die ovariellen Steroide in Schach gehalten wurde. Die von den jüngsten Tieren auf die Stimulation mit LH-RH dann weitaus größere mobilisierte FSH-Menge ist wohl durch die in

diesem Alter stärkere Sensibilität der Hypophyse für LH-RH zu erklären. Es ist anzunehmen, daß der Stimulationsreiz zu einem maximalen Produktion und Sekretion von FSH führt.

4.2.3 Vergleich des Serum-FSH bei ovarektomierten und mit Östrogen blockierten Tieren im Alter von 35, 56 und 90 Tagen (Abb. 5 u. 6)

Vergleicht man die Serum-FSH-Spiegel der intakten und der Östrogen-blockierten Tiere vor der LH-RH-Gabe, so zeigt sich bei den 35 und 56 Tage alten Tieren ein fast identischer Anstieg der FSH-Konzentration (102 % und 109 %) als Ausdruck des positiven Feed-back-Effektes des applizierten Östrogens auf das System Hypothalamus-Hypophyse. Bei den 90 Tage alten Tieren stieg das FSH um 188 %. Es zeigt sich also eine Zunahme des positiven Feed-back mit dem Älterwerden der Tiere.

Auf die Stimulation mit LH-RH zeigen alle Altersgruppen stetig ansteigende FSH-Werte. Der Kurvenverlauf beginnt bei den 90 Tage alten Tieren wiederum wesentlich flacher als bei den jüngeren Tieren und erreicht nie deren prozentuale Anstiegswerte. Die Steigerungswerte der 56 und 35 tägigen Tiere liegen ziemlich beieinander, erst im letzten Zeitintervall liegen die 56 tägigen um 16 % über den 35 tägigen Tieren. Eine mögliche Erklärung für dieses Zurückfallen liegt im Vorhandensein eines kleineren FSH-Pools, dessen Kapazität sich jetzt erschöpft. Mit 640 ng/ml FSH mobilisieren die 35 Tage alten Tiere den größten Nettobetrag, gefolgt von den 56 tägigen mit 610 ng/ml FSH und den 90 tägigen mit 475 ng/ml FSH. Ursache für die geringere Menge bei den ältesten Tieren ist wohl ihr trägeres Ansprechen auf die Stimulation mit LH-RH. Die schnellere Reaktion der jüngeren Tiere ist analog dem Verhalten dieser Altersgruppe in intaktem und kastriertem Zustand. Ebenso das Vorhandensein der höchsten Serumspiegel an FSH sowohl vor als auch nach der Stimulation.

Wie oben erwähnt, führte die Östrogengabe vor der Stimulation mit LH-RH bei den 35 Tage alten Tieren bei einem Anstieg von 102 % zu einer geringeren Steigerung des FSH-Blutspiegels als bei den 90 tägigen Tieren, die einen Anstieg von 188 % aufweisen. Bei der Stimulation mit LH-RH zeigen die jüngeren Tiere dann aber stets größere prozentuale Anstiege des FSH pro Zeiteinheit als die älteren. Diese Diskrepanz zwischen einerseits geringerer positiver Feed-back-Wirkung zwischen appliziertem Östrogen und FSH-Sekretion und andererseits stärkerem Ansprechen auf exogenes LH-RH spricht dafür, daß der positive Feed-back zwischen Östrogen und Hypophyse-Hypothalamus noch nicht voll ausgereift ist, daß aber die Hypophyse isoliert gesehen zu einer maximalen Reaktion auf LH-RH in der Lage ist, und zwar mit der den jüngeren Tieren eigenen Sensibilität.

4.3 Betrachtung des unterschiedlichen LH-Sekretionsmodus nach LH-RH-Stimulation von intakten, ovarektomierten und Östrogen-blockierten Tieren e i n e r Altersgruppe

4.3.1 Vergleich der Reaktion von 90 Tage alten Tieren in intaktem, ovarektomiertem und Östrogen-blockiertem Zustand (Abb. 16)

Betrachtet man den relativen Anstieg des Serum-LH auf die Stimulation mit LH-RH hin, so findet man in den ersten 30 Minuten bei den mit Östrogen behandelten Tieren deutlich höhere Anstiegswerte als bei den intakten Tieren. 5 Minuten nach der LH-RH-Gabe zeigen sie eine etwa dreimal so große Zunahme der LH-Konzentration (170 % gegenüber 55,5%). Im 30 - 60 Minutenintervall kommt es bei den intakten Tieren zu einem Anstieg des Serumwertes um 388 %. Mit dieser Steigerung des LH-Spiegels lassen sie die mit Östrogen behandelten Tiere hinter sich, die in diesem Zeitraum nur zu einer Steigerung der LH-Konzentration um 280 % in der Lage sind. Während der restlichen 60 Minuten ist dann kein relevanter Unterschied zwischen beiden Gruppen mehr festzustellen.

Aus diesen Ergebnissen ist abzuleiten, daß die Applikation einer pharmakologischen Östrogendosis bei den Tieren zu einer größeren hypophysären Sensibilität für LH-RH geführt hat. Auf die Stimulation hin kam es zu einem 3 bis 4 mal so großen LH-output in den ersten 10 Minuten. Der Ausgleich dieses großen Unterschiedes in dem prozentualen LH-Anstieg zwischen intakten und mit E_2 behandelten Tieren in der letzten Stunde zeigt, daß die bei den intakten Tieren vorhandene physiologische Östrogenmenge zu prozentualen Anstiegswerten führt, die auch durch eine pharmakologische Östrogendosis nicht mehr gesteigert werden können. Der positive Feed-back zwischen appliziertem Östrogen und LH-RH kommt nur in der ersten halben Stunde nach der Stimulation deutlich zum Ausdruck, indem es zu einem schnelleren LH-

output kommt, das heißt das trägere Ansprechen der intakten Tiere wird durch die pharmakologische E_2-Dosis kompensiert. Eine Steigerung des prozentualen Anstiegs insgesamt ist jedoch nicht möglich, da in diesem Alter die physiologisch vorhandene Östrogenmenge schon zu einer maximalen Reaktion der Hypophyse auf LH-RH führt.

Die Reaktion der kastrierten Tiere ist im Vergleich zu der der intakten und mit Östrogen behandelten Tiere minimal. Sie sind in den ersten 30 Minuten nur zu einer Steigerung ihres LH-Blutspiegels um 40 % in der Lage, um dann nach 90 Minuten einen peak-Wert zu erzielen (Steigerung der LH-Konzentration um 108 %). Zu diesem Zeitpunkt weisen die intakten Tiere eine Steigerung ihres LH-Serumblutspiegels um 527 % und die mit E_2 behandelten Tiere einen Anstieg um 580 % auf. Die beiden letzteren zeigen dann ein noch weiteres Ansteigen der LH-Werte, während die kastrierten Tiere, wie oben erwähnt, zu diesem Zeitpunkt einen peak aufweisen. Aus den sehr niedrigen Steigerungswerten ist abzuleiten, daß für ein maximales Reagieren der Hypophyse auf LH-RH ein bestimmter Östrogenspiegel erforderlich ist. Ansonsten kommt es nur zu einem geringen "Basis-output", der immer unter dem der intakten Tiere liegt.

Betrachtet man die Serumwerte vor der Stimulation mit LH-RH, so ist zu sehen, daß die Kastration zu einem Anstieg des LH-Serumblutspiegels um 33 % führte. Dieser Anstieg ist als Folge des Wegfalls der negativen Feed-back-Wirkung der gonadalen Steroide auf die Hypophyse zu verstehen. Die Östrogengabe an die ovarektomierten Tiere bewirkte einen Abfall des Serum LH um 44 %, was auf einen negativen Feed-back-Effekt des Östrogens auf die hypophysäre LH-Abgabe schliessen läßt.

Ausgehend von einem Nullwert von 180 ng/ml LH sind die intakten Tiere in der Lage, auf die Stimulation hin einen Nettobetrag von 1220 ng/ml LH zu mobilisieren um ihren peak-Wert von 1400 ng/ml LH nach 120 Minuten zu erreichen. Die kastrierten Tiere setzen auf die Stimulation hin dage-

gen nur 260 ng/ml LH frei, um ihren Maximalwert von 500 ng/ml LH zu erreichen. Die mit Östrogen behandelten Tiere erreichen eine höchsten Serumwert von 720 ng/ml LH indem sie netto 620 ng/ml LH mobilisieren. Somit setzen die mit E_2 behandelten Tiere auf die LH-RH-Gabe hin etwa die Hälfte der Hormonmenge frei, die die intakten Tiere abgeben. Diese Diskrepanz zwischen nahezu gleichen prozentualen Anstiegswerten beider Gruppen und erheblich differenten mobilisierten Hormonmengen erklärt sich aus dem zuvor festgestellten negativen Feed-back-Effekt des applizierten Östrogens das zu einem Abfall des Serumwertes um 44 % geführt hatte. Aufgrund dieser Hemmwirkung auf die hypophysäre LH-Produktion und Sekretion stand ein kleinerer LH-pool zur Verfügung als bei den intakten Tieren, sodaß trotz maximaler LH-Mobilisation nur etwa die Hälfte der Hormonmenge freigesetzt werden konnte.

Die geringe Hormonmenge, die von den kastrierten Tieren nach der LH-RH-Stimulation freigesetzt wird, erklärt sich aus den niedrigen prozentualen Steigerungswerten infolge des Östrogenmangels.

4.3.2 Vergleich der Reaktion von 56 Tage alten Tieren in intaktem, ovarektomiertem und Östrogen-blockiertem Zustand (Abb. 17)

Die Betrachtung des prozentualen Anstiegs der Serumwerte nach der Stimulation mit LH-RH zeigt bei den intakten Tieren eine Zunahme der LH-Konzentration um 83,3 % in den ersten 5 Minuten. Die mit Östrogen behandelten Tiere sind dagegen zu einer Steigerung des LH-Serumblutspiegels um 130 % in der Lage. In den folgenden Zeitintervallen sind die Anstiegwerte beider Gruppen nahezu gleich, erst bei den beiden zuletzt gemessenen Werten zeigen die mit Östrogen behandelten Tiere deutlich höhere Steigerungswerte.

(60 - 90 Minutenintervall, intakte: 333 %; ov.+E_2: 480 %;
90 - 120 Minutenintervall, intakte: 450 %; ov.+E_2: 610 %)

Die Östrogengabe bewirkte somit eine Erhöhung der Sensibilität der Hypophyse für LH-RH, wie aus dem initial größeren Anstieg der Serumkonzentration zu sehen ist. Im Gegensatz zu den 90 Tage alten Tieren kommt es hier zu einem prozentualen Anstieg der Serumkonzentration bei den mit Östrogen behandelten Tieren der über den der intakten Tiere hinausgeht. Dies bedeutet, daß die bei den 56 tägigen Tieren physiologisch vorhandene Östrogenmenge für eine maximale LH-Ausschüttung der Hypophyse auf die LH-RH-Gabe hin nicht ausreichend ist. Demzufolge kann mit einer pharmakologischen Östrogendosis ein größerer prozentualer Anstieg der Serumkonzentration pro Zeiteinheit erzielt werden. Die prozentualen Anstiegswerte der kastrierten Tiere liegen in allen Zeitintervallen unter denen der beiden anderen Gruppen. Nach 90 Minuten wird eine maximale Steigerung des LH-Serumspiegels um 225 % erreicht, gefolgt von einem deutlichen Abfall. Die intakten und die mit Östrogen behandelten Tiere zeigen dagegen bis zuletzt ein Ansteigen ihrer LH-Serum-Konzentration.

Es zeigt sich wiederum, daß der Entzug der Östrogene durch die Ovarektomie zu einem nur geringen Ansprechen der Hypophyse auf den Stimulationsreiz führt, da der positive Feedback zwischen LH-RH und Östrogen nicht zum Tragen kommen kann.

Betrachtet man die LH-Spiegel vor der Stimulation, so zeigt sich, daß die Kastration zu einem Anstieg des LH-Wertes von 120 ng/ml LH auf 160 ng/ml LH geführt hat. Dies entspricht einer Zunahme um 33 %. Die Östrogengabe an die ovarektomierten Tiere führte zu einem Serumwert von 100 ng/ml LH. Dies bedeutet einen Abfall um 16 % gegenüber den intakten Tieren. Es zeigt sich somit ein negativer Feed-back-Effekt des applizierten Östrogens auf die hypophysäre LH-Sekretion und Produktion.

Infolge der LH-RH-Stimulation mobilisieren die intakten Tiere einen Nettobetrag von 540 ng/ml LH um ihren Maximalwert von 660 ng/ml LH zu erreichen. Die kastrierten Tiere

setzen 360 ng/ml LH frei, die mit Östrogen behandelten Tiere 610 ng/ml LH. Der größere Nettobetrag, den die Östrogen blockierten Tiere freisetzen ist die Folge der durch die größere Östrogendosis erzielten stärkeren positiven Feed-back-Wirkung zwischen Östrogen und LH-RH. Die nur halb so große LH-Menge, die von den kastrierten Tieren freigesetzt wird, erklärt sich aus dem schwachen Ansprechen der Hypophyse auf die Stimulation infolge des Östrogenmangels.

4.3.3 Vergleich der Reaktion von 35 Tage alten Tieren in intaktem, ovarektomiertem und Östrogen blockiertem Zustand (Abb. 18)

Im Unterschied zu den vorhergehenden Altersgruppen zeigen die 35 Tage alten Tiere die höchsten prozentualen Anstiegswerte des Serum LH auf die Stimulation hin im intakten Zustand. Es zeigt sich in den ersten 5 Minuten nach LH-RH-Gabe ein Anstieg des Serum-LH um 180 %, während die mit Östrogen behandelten Tiere eine Steigerung von 117 % aufweisen. Diese Differenz zwischen den prozentualen Anstiegswerten wird im Verlaufe der gemessenen 120 Minuten immer größer. Im letzten Zeitintervall zeigen die intakten Tiere einen Anstiegswert um 610 %, die mit Östrogen behandelten Tiere dagegen sind nur zu einer Steigerung ihres Serum-LH um 252 % in der Lage. Dies bedeutet, daß die bei den Tieren vorhandene geringe physiologische Östrogenmenge zu einem positiven Feed-back zwischen Östrogen und LH-RH führt. Die hieraus resultierende Steigerung der Serumkonzentration für LH steht mit einer Zunahme um 610 % der der älteren Tiere nicht nach. Die pharmakologische Östrogendosis hat jedoch einen eindeutig negativen Feed-back-Effekt, es wird auf die Stimulation hin pro Zeitintervall wesentlich weniger LH mobilisiert.

Die kastrierten Tiere zeigen bis auf das 30 - 60 Minutenintervall prozentuale Anstiege, die unter denen der Tiere mit Östrogen liegen. Dies weist daraufhin, daß das Fehlen eines gewissen Östrogenspiegels sich in einem geringeren Ansprechen der Hypophyse auf LH-RH bemerkbar macht. Es fällt

auf, daß die Steigerungswerte der kastrierten Tiere und der mit Östrogen behandelten Tiere mehr beieinander liegen. Beide sind infolge eines negativen Feed-back-Effektes, einmal durch Östrogenmangel, das andere Mal durch Östrogenüberschuß, deutlich unter den Anstiegswerten der intakten Tiere. Die kastrierten Tiere noch mehr als die mit Östrogen behandelten.

Die Kastration der Tiere führte zu einem Anstieg der LH-Konzentration von 100 ng/ml LH auf 230 ng/ml LH. Dieser Anstieg um 130 % ist als Folge des Ausscheidens der durch die ovariellen Steroide bedingten Bremswirkung auf die hypophysäre LH-Produktion und Sekretion zu verstehen. Der enorme prozentuale Anstieg des Serum-LH infolge der Kastration läßt auf eine große Relevanz des negativen Feed-back in diesem Alter schließen.

Die Östrogengabe führte zu einem Anstieg des Serum-LH um 130 %. Somit liegt bei den jüngsten Tieren im Gegensatz zu den beiden älteren Altersgruppen ein positiver Feed-back zwischen Östrogen und LH-Sekretion vor. Dies zeigt sich auch darin, daß die Tiere nach der Stimulation mit LH-RH einen Nettobetrag von 580 ng/ml LH mobilisieren, es muß also ein großer hypophysärer LH-pool vorhanden gewesen sein. In Absolutwerten gesehen setzen die mit Östrogen behandelten Tiere also eine nur geringfügig kleinere LH-Menge auf die Stimulation hin frei als die intakten Tiere (610 ng/ml LH), ihre prozentualen Anstiegswerte liegen jedoch deutlich unter denen der intakten Tiere.

Die kastrierten Tiere schütten netto 640 ng/ml LH auf die LH-RH-Gabe hin aus. Dies bestätigt die Annahme einer großen Bedeutung des negativen Feed-back in diesem Alter.

4.4 Betrachtung der unterschiedlichen LH-Sekretion nach der Gabe von LH-RH in Abhängigkeit vom Alter der Tiere

4.4.1 Vergleich des Serum-LH bei intakten Tieren im Alter von 35, 56 und 90 Tagen (Abb. 10 u. 11)

In den ersten 30 Minuten nach der LH-RH-Stimulation zeigen die älteren Tiere deutlich ein trägeres Ansprechen auf den Stimulationsreiz. Der prozentuale LH-Anstieg in diesem Zeitintervall ist bei den 30 Tage alten Tieren etwa dreimal so groß wie bei den 90 tägigen. Im 30 - 60 Minutenintervall kommt es dann zu einer schlagartigen Umkehr der Verhältnisse. Mit einem Anstiegswert von 388 % liegen jetzt die 90 Tage alten Tiere deutlich über den jüngeren (56 tägige: 200 %; 35 tägige: 320 % Anstieg). Diese Reihenfolge wird dann bis zuletzt beibehalten: die 90 tägigen Tiere sind zu der größten prozentualen Steigerung ihrer LH-Konzentration pro Zeitintervall in der Lage, gefolgt von den 35 tägigen und dann den 56 tägigen Tieren.

Insgesamt gesehen reagieren die 35 Tage alten Tiere am sensibelsten auf die LH-RH-Gabe. Schon in den ersten Minuten steigt der LH-Serumspiegel um 180 %, nach 120 Minuten beträgt der Anstieg insgesamt 610 %. Mit einem Anstieg von 677 % liegen die 90 Tage alten Tiere nicht wesentlich höher. Zudem erfolgte der LH-Anstieg bei dieser Altersgruppe in den ersten 30 Minuten sehr träge.

Die absoluten LH-Serumwerte zeigen bei den 90 tägigen Tieren sowohl vor, als auch nach der LH-RH-Gabe die höchsten Beträge. 120 Minuten nach der Stimulation beträgt der Serumspiegel bei den 90 Tage alten Tieren mit 1400 ng/ml LH das Doppelte der LH-Konzentration der 35 tägigen Tiere (710 ng/ml LH). Das Vorliegen eines etwa doppelt so hohen Serumspiegels bei den 90 Tage alten Tieren ist ab dem 30 - 60 Minutenintervall festzustellen, dem Zeitpunkt der plötzlich einsetzenden enormen Steigerung der Serumwerte pro Zeitintervall.

Die infolge der LH-RH-Gabe freigesetzten Nettobeträge sind bei den 90 tägigen Tieren ebenfalls das Doppelte der von den 35 tägigen freigesetzten LH-Menge (1220 ng/ml LH gegenüber 610 ng/ml LH).

Aus diesen Ergebnissen ist zu schließen, daß die 90 tägigen Tiere über einen wenigstens doppelt so großen hypophysären LH-pool verfügen wie die 35 tägigen. Sie sprechen auf die Stimulation träger an, sind dann aber in der Lage, ihre LH-Serumwerte erheblich zu steigern. Die Reaktion der 35 tägigen Tiere setzt sofort kräftiger ein und vermittelt somit ein mehr kontinuierliches Bild. Die 56 tägigen Tiere zeigen in den ersten 35 Minuten ein sensibleres Ansprechen auf die LH-RH-Stimulation als die 90 tägigen. Sie fallen dann aber zurück, die prozentualen Steigerungswerte der LH-Konzentration der 35 tägigen werden nie erreicht. Ihr peak-Wert liegt mit 660 ng/ml LH unter dem der 35 tägigen Tiere (710 ng/ml LH), der infolge der LH-RH-Gabe mobilisierte Nettobetrag ist mit 540 ng/ml LH ebenfalls kleiner als die von den 35 tägigen Tieren freigesetzte LH-Menge. Diese niedrigeren Werte sind wohl als das Ergebnis einer trägeren Reaktion auf LH-RH anzusehen und nicht etwa das Resultat eines kleineren hypophysären pools.

4.4.2 Vergleich des Serum-LH bei ovarektomierten Tieren im Alter von 35, 56 und 90 Tagen (Abb. 12 u. 13)

Beim Betrachten der Serumabsolutwerte wird deutlich, daß die Kastration bei allen Altersgruppen zu einem Anstieg der Serum-LH-Konzentration führte. Infolge des Wegfalls des negativen Feed-back der gonadalen Steroide kam es bei den 90 tägigen und 56 tägigen Tieren jeweils zu einem Anstieg des Hormonspiegels um 33 %, die 35 Tage alten Tiere reagierten mit einer Steigerung der LH-Serumkonzentration um 80 %. Diese größere Empfindlichkeit der Hypophyse dieser Tiere auf den Östrogenentzug weist daraufhin, daß der negative Feed-back-Mechanismus bei den jüngeren Tieren noch eine größere Bedeutung hat.

Sowohl vor als auch nach der Stimulation mit LH-RH weisen die 90 Tage alten Tiere die höchsten LH-Spiegel auf, gefolgt von den 35 tägigen Tieren.

Alle Altersgruppen zeigen in ihrem LH-Kurvenverlauf einen peak. Dieser peak ist bei den 35 Tage alten Tieren am stärksten ausgeprägt. Er wird schon nach 60 Minuten erreicht, während die älteren Tiere ihre Maximalwerte erst nach 90 Minuten erreichen. Vor allem der peak der 90 tägigen Tiere ist sehr diskret ausgebildet. Diese peak-Situation zeigt ebenso wie die prozentualen Anstiegswerte des LH nach der Stimulation wiederum eine größere Empfindlichkeit der Hypophyse der 35 Tage alten Tiere für LH-RH als bei den älteren. Es zeigt sich also wie bei den intakten Tieren eine zunehmend trägere Reaktion auf LH-RH-Stimulation mit dem Älterwerden der Tiere. So kommt es in den ersten 5 Minuten nach der LH-RH-Gabe bei den 90 tägigen Tieren zu einem Anstieg des Serum-LH um 16,6 %, bei den 56 tägigen um 50 %, bei den 35 tägigen Tieren jedoch um 100 %. Diese höchsten Steigerungswerte bei den 35 Tage alten Tieren werden bis zum Ende des von uns gemessenen Zeitintervalls von 120 Minuten gefunden. An zweiter Stelle folgen die 56 tägigen Tiere. Die 90 tägigen sind also zu keiner Zeit in der Lage, ebenso hohe prozentuale Anstiege des Serum LH zu erzielen wie die jüngeren Tiere. So steigern sie ihre LH-Konzentration um ihren peak zu erreichen um 108 %, die 56 tägigen um 225 %, die 35 tägigen um 355 %.

Infolge der LH-RH-Applikation kommt es bei den 90 Tage alten Tieren zu einer Ausschüttung von netto 260 ng/ml LH, bei den 56-tägigen werden 360 ng/ml LH mobilisiert, bei den 35 tägigen 640 ng/ml LH. Diese unterschiedlichen Mengen erklären sich aus der dargestellten unterschiedlichen Reagibilität der verschiedenen Altersgruppen auf den Stimulationsreiz. Ein bei den älteren Tieren vorhandenes größeres pool-Volumen kommt aufgrund ihres trägeren Anspreches auf den Sekretionsreiz innerhalb eines begrenzten Zeitraumes von 120 Minuten nicht zum Tragen.

4.4.3 Vergleich des Serum-LH bei ovarektomierten und Östrogen blockierten Tieren im Alter von 35, 56 und 90 Tagen (Abb. 14 u. 15)

Vergleicht man die LH-Serumwerte dieser Tiere mit denen der intakten Tiere vor der Stimulation mit LH-RH, so wird deutlich, daß die Östrogengabe bei den 56 Tage alten Tieren ebenso wie bei den 90 tägigen Tieren zu einem Abfall der LH-Serumspiegel geführt hat. Bei den 56 tägigen Tieren ist dieser Effekt mit einem Abfall der Serumwerte um 16 % weniger ausgeprägt als bei den 90 tägigen, bei denen es zu einem Absinken der Serumkonzentration um 44 % kam. Die 35 Tage alten Tiere reagierten dagegen auf die Östrogengabe mit einem Anstieg des Serum-LH um 130 %. Während also bei den jüngsten Tieren das Östrogen einen eindeutig positiven Feed-back-Effekt auf die hypophysäre LH-Sekretion bewirkte, kam es bei den älteren Tieren zu einer Drosselung der LH-Abgabe infolge eines in diesem Alter negativen Feed-back zwischen Östrogen und dem System Hypophyse-Hypothalamus. Mit zunehmendem Alter der Tiere zeigt sich eine Verstärkung dieser Östrogenwirkung.

Auf die Stimulation mit LH-RH hin zeigen alle Altersgruppen einen stetigen Anstieg der LH-Serumwerte, d.h. der peak muß jenseits der von uns gemessenen 120 Minuten liegen.

Im Gegensatz zu den intakten und den ovarektomierten Tieren weisen in dieser Gruppe die ältesten Tiere die höchsten prozentualen Anstiege des LH pro Zeiteinheit auf. Dies weist auf eine zunehmende Reifung des positiven Feed-back zwischen Östrogen und LH-RH mit dem Älterwerden der Tiere hin. So zeigen die 90 tägigen Tiere in den ersten 5 Minuten nach LH-RH-Gabe bereits eine Zunahme der LH-Konzentration um 170 %, während die 35 tägigen Tiere lediglich zu einer Steigerung der LH-Konzentration um 117 % in der Lage sind. Die 56 tägigen Tiere liegen mit einem Anstiegswert von 130 % dazwischen. Im letzten Zeitintervall haben die 35 Tage alten Tiere dann einen maximalen Anstiegswert von 252 % erreicht. Die 56 tägigen Tiere konnten in diesem Zeitraum

ihren LH-Serumblutspiegel um 610 % steigern, die 90 tägigen um 620 %. Dies zeigt, daß die Hypophyse der 56 tägigen Tiere zu derselben Steigerung des Hormonspiegels in der Lage ist, wie die der 90 tägigen Tiere. Der maximale Anstieg wird nur weniger dynamisch erreicht als bei den 90 tägigen Tieren.

Im Bereich der Absolutwerte ist zwischen den 56 Tage alten Tieren und den 90 tägigen kein Unterschied festzustellen. Beide mobilisieren vom gleichen Nullwert ausgehend eine gleich große Menge an LH (610 ng/ml LH bzw. 620 ng/ml LH). Die 35 Tage alten Tiere setzen einen Nettobetrag von 580 ng/ml LH auf die Stimulation hin frei, also nicht sehr viel weniger. Es besteht bezüglich der auf die LH-RH-Gabe hin sezernierten Hormonmenge zwischen den 35 tägigen und den älteren Tieren nicht der Unterschied, der aufgrund der erheblich differierenden prozentualen Anstiegswerte zu vermuten gewesen wäre (35 tägige: maximal 252 % gegenüber 90 tägige: 620 %). Der positive Feed-back zwischen dem applizierten Östrogen und LH-RH liegt also vor allem in einer Zunahme der Dynamik, mit der dann auf die Stimulation hin das LH sezerniert wird. Je ausgereifter der positive Feed-back ist, d.h. je älter die Tiere sind, desto mehr Hormon wird pro Zeiteinheit abgegeben.

4.5 Betrachtung des Verhältnisses FSH zu LH vor und nach der Stimulation mit LH-RH bei den verschiedenen Altersgruppen der intakten, ovarektomierten und Östrogen blockierten Tiere

Bei den intakten Tieren sieht man, daß der Quotient FSH/LH mit zunehmendem Alter der Tiere kleiner wird, d.h. es kommt zu einem ausgewogeneren Verhältnis zwischen FSH und LH mit dem Älterwerden der Tiere. So zeigen die 35 Tage alten Tiere noch einen Wert von 4,2, die 90 tägigen Tiere nur noch 1,25. Wie schon zuvor beim Vergleich der Serumkonzentrationen der verschiedenen Altersgruppen gezeigt wurde, kommt es zu einem Abfall der Serum-Nullwerte für FSH mit steigendem Alter der Tiere, während die LH-Werte mit zunehmender Reife der Tiere ansteigen. Auch bei den ovarektomierten Tieren ist die FSH-Menge der LH-Konzentration deutlich überlegen. Es zeigt sich auch hier wieder eine höhere Serum-FSH-Konzentration bei den jüngeren Tieren, sodaß bei den 35 tägigen wiederum der höchste Verhältniswert FSH zu LH zu finden ist. Hieraus ist zu schließen, daß der Sekretionsreiz auf die Hypophyse durch die Kastration vor allem zu einer Mobilisierung des hypophysären FSH-pools führt und weniger die LH-Abgabe steigert. Dieses läßt sich bei allen Altersgruppen feststellen, wobei es jedoch mit zunehmendem Alter zu einem Kleinerwerden des Quotienten kommt, d.h. die FSH-Abgabe mengenmäßig etwas zurückgeht und die LH-Sekretion leicht ansteigt. Die große Diskrepanz zwischen beiden Hormonmengen bleibt jedoch noch bestehen. So beträgt das Verhältnis FSH : LH bei den 90 tägigen ovarektomierten Tieren immer noch 4,42. Es ist anzunehmen, daß entweder der FSH-pool wesentlich größer ist als der für LH, oder daß das FSH beim Wegfall der gonadalen Steroide leichter mobilisierbar ist.

Nach Östrogengabe zeigen die 56 tägigen und die 90 tägigen Tiere ebenfalls große Verhältniswerte, d.h. sie geben auf die Östrogengabe infolge des positiven Feed-back zwischen Östrogen und hypophysärer FSH-Sekretion eine große Menge des Hormons frei, allerdings nicht so viel wie die kastrier-

ten Tiere. Der dennoch sehr hohe Wert ist auf die Abnahme des Serum-LH infolge der Östrogengabe bei diesen Tieren zurückzuführen. Hatte das Östrogen also einen positiven Feed-Back-Effekt bezüglich der FSH-Sekretion gezeigt, so bewirkte es bei der LH-Abgabe eine Hemmung. Der Quotient FSH : LH ist bei den 56 Tage alten Tieren etwas größer als bei den 90 tägigen, da sie ihrem Alter entsprechend eine etwas höhere FSH-Serumkonzentration haben als die älteren Tiere. Bei den 35 Tage alten Tieren ist das Verhältnis FSH : LH jedoch kleiner als bei den intakten gleichaltrigen Tieren. Dieser kleinere Quotient ist das Ergebnis einer bei den 35 Tage alten Tieren höheren LH-Serumkonzentration als bei den älteren. Bedingt ist diese durch einen positiven Feed-back des Östrogens der dann mit dem Älterwerden der Tiere zu einem negativen wird.

Für die Betrachtung des Verhältnisses FSH : LH nach der Stimulation mit LH-RH wurden die so erreichten Maximalwerte für beide Hormone zugrunde gelegt, also entweder die peak-Werte oder die nach 120 Minuten erreichten Maxima.

Überall zeigt sich nach der Stimulation mit LH-RH ein Kleinerwerden des Quotienten FSH : LH, d.h. obwohl die FSH-Sekretion weiterhin größer ist als die LH-Abgabe wird auf die Stimulation hin relativ mehr LH abgegeben als vor der Stimulation. Bei den intakten Tieren sogar auch absolut mehr. Hier zeigen die ältesten Tiere den kleinsten Verhältniswert. Sie schütten auf die Stimulation hin eine kleinere Menge an FSH aus als die jüngeren Tiere und die größte Menge an LH. Die 56 Tage alten Tiere und die 35 tägigen weisen das gleiche Verhältnis auf.

Bei den ovarektomierten Tieren zeigen die 90 Tage alten den größten Verhältniswert, d.h. sie schütten wesentlich mehr FSH aus als die jüngeren. Wie festgestellt wurde, steigert die Kastration vor allem die FSH-Sekretion und wohl auch den FSH-pool. Ausgehend von einem größeren FSH-pool bei den älteren Tieren ist das Kleinerwerden des Quotienten bei den jüngeren Tieren offensichtlich. Sie können

keine so großen Mengen mobilisieren wie die älteren Tiere. Die LH-Sekretion nimmt zudem nach erfolgter Stimulation bei den jüngeren Tieren mehr zu als bei den älteren.

Nach der Stimulation der mit Östrogen behandelten Tiere kommt es bei allen Altersgruppen zu einem deutlichen Kleinerwerden des Verhältnisses FSH : LH. Es ist bei den ältesten Tieren am kleinsten. Sie schütten weniger FSH aus als die jüngeren Tiere, aber immer noch eine sehr große Menge. Die 35 Tage alten Tiere zeigen einen größeren LH-Spiegel nach der Stimulation als die älteren. Es ist zu diskutieren, ob dies als Ergebnis eines größeren LH-pools anzusehen ist infolge des positiven Feed-back zwischen LH und dem vor der Stimulation mit LH-RH applizierten Östrogen.

5. Tabellen und Abbildungen

5.1 Tabellen

Tabelle 1: FSH-Serumkonzentrationen bei intakten Tieren in ng/ml. Die Messung erfolgte vor der Stimulation mit LH-RH (0-Wert) und dann im Abstand von 5,10, 30,60,90 und 120 Minuten

	0-Wert	5	10	30	60	90	120 Min.
35 Tage	420	260	330	620	550	360	280
56 Tage	320	280	200	360	580	440	360
90 Tage	225	220	70	225	280	350	380

Tabelle 2: FSH-Serumkonzentrationen bei ovarektomierten Tieren in ng/ml. Die Messung erfolgte vor der Stimulation mit LH-RH (0-Wert) und dann im Abstand von 5,10,30,60,90 und 120 Minuten

	0-Wert	5	10	30	60	90	120 Min.
35 Tage	1420	1220	1350	1560	1820	1720	1580
56 Tage	1180	1120	1280	1380	1450	1450	1250
90 Tage	1060	1150	1200	1280	1420	1580	1560

Tabelle 3: FSH-Serumkonzentrationen bei ovarektomierten und Östrogen-blockierten Tieren in ng/ml. Die Messung erfolgte vor der Stimulation mit LH-RH (0-Wert) und dann im Abstand von 5,10, 30,60,90 und 120 Minuten

	0-Wert	5	10	30	60	90	120 Min.
35 Tage	850	925	1015	1260	1310	1390	1490
56 Tage	670	770	810	960	1050	1075	1280
90 Tage	650	700	770	820	950	1020	1125

Tabelle 4: FSH-Anstieg in v.H. nach der Stimulation mit LH-RH bei intakten Tieren

Min.Int.	0-5	5-10	10-30	30-60	60-90	90-120
35 Tage	-38,0	-21,0	47,6	31,0	-14,3	-33,3
56 Tage	-12,5	-37,5	12,5	81,25	37,5	12,5
90 Tage	- 2,2	-68,0	0,0	24,4	55,5	68,8

Tabelle 5: FSH-Anstieg in v.H. nach der Stimulation mit LH-RH bei ovarektomierten Tieren

Min.Int.	0-5	5-10	10-30	30-60	60-90	90-120
35 Tage	-14,0	- 4,9	9,8	28,2	21,2	11,26
56 Tage	- 5,1	8,4	16,9	22,8	22,8	5,9
90 Tage	8,5	13,2	20,75	34,0	49,0	47,0

Tabelle 6: FSH-Anstieg in v.H. nach der Stimulation mit LH-RH bei ovarektomierten und Östrogen-blockierten Tieren

Min.Int.	0-5	5-10	10-30	30-60	60-90	90-120
35 Tage	8,8	19,4	48,0	54,1	63,5	75,3
56 Tage	14,9	21,0	43,3	56,7	60,4	91,0
90 Tage	7,7	18,4	26,1	46,1	56,9	73,0

Tabelle 7: Anstieg des Serum-FSH infolge Kastration und Östrogenapplikation innerhalb der verschiedenen Altersgruppen

	FSH-Anstieg infolge Ovarektomie	FSH-Anstieg infolge Östrogenapplikation
35 Tage	238 %	102 %
56 Tage	268 %	109 %
90 Tage	371 %	188 %

Tabelle 8: Infolge LH-RH-Stimulation freigesetzte Nettobeträge FSH in ng/ml

	intakt	ovarektomiert	ovarektomiert + E_2
35 Tage	200	400	640
56 Tage	260	270	610
90 Tage	155	520	475

Tabelle 9: LH-Serumkonzentrationen bei intakten Tieren in ng/ml. Die Messung erfolgte vor der Stimulation mit LH-RH (O-Wert) und dann im Abstand von 5,10, 30,60,90 und 120 Minuten

	O-Wert	5	10	30	60	90	120 Min.
35 Tage	100	280	280	390	420	540	710
56 Tage	120	220	320	340	360	520	660
90 Tage	180	280	370	550	880	1130	1400

Tabelle 10: LH-Serumkonzentrationen bei ovarektomierten Tieren in ng/ml. Die Messung erfolgte vor der Stimulation mit LH-RH (O-Wert) und dann im Abstand von 5,10,30,60,90 und 120 Minuten

	O-Wert	5	10	30	60	90	120 Min.
35 Tage	180	360	380	400	820	500	440
56 Tage	160	240	280	360	360	520	300
90 Tage	240	280	340	340	400	500	480

Tabelle 11: LH-Serumkonzentrationen bei ovarektomierten und Östrogen blockierten Tieren in ng/ml. Die Messung erfolgte vor der Stimulation mit LH-RH (O-Wert) und dann im Abstand von 5,10,30,60,90 und 120 Minuten

	O-Wert	5	10	30	60	90	120 Min.
35 Tage	230	500	540	600	600	780	810
56 Tage	100	230	260	290	330	580	710
90 Tage	100	270	330	340	380	680	720

Tabelle 12: LH-Anstieg in v.H. nach der Stimulation mit LH-RH bei intakten Tieren

Min.Int.	0-5	5-10	10-30	30-60	60-90	90-120
35 Tage	180	180	290	320	440	610
56 Tage	83,3	166	183	200	333	450
90 Tage	55,5	50	100	388	527	677

Tabelle 13: LH-Anstieg in v.H. nach der Stimulation mit LH-RH bei ovarektomierten Tieren

Min.Int.	0-5	5-10	10-30	30-60	60-90	90-120
35 Tage	100,0	111,0	122,0	355,0	177,0	144,0
56 Tage	50,0	75,0	125,0	125,0	225,0	87,5
90 Tage	16,6	41,6	41,6	66,6	108,3	100,0

Tabelle 14: LH-Anstieg in v.H. nach der Stimulation mit LH-RH bei ovarektomierten und mit Östrogen blockierten Tieren

Min.Int.	0-5	5-10	10-30	30-60	60-90	90-120
35 Tage	117,4	134,8	160,9	160,9	239,1	252,1
56 Tage	130,0	160,0	190,0	230,0	480,0	610,0
90 Tage	170,0	230,0	240,0	280,0	580,0	620,0

Tabelle 15: Anstieg bzw. Abnahme des Serum-LH infolge Kastration und Östrogenapplikation innerhalb der verschiedenen Altersgruppen

	LH-Anstieg infolge Ovarektomie	LH-Anstieg bzw.Abfall infolge E_2Applikation
35 Tage	80 %	130 %
56 Tage	33 %	- 16 %
90 Tage	33 %	- 44 %

Tabelle 16: Infolge LH-RH-Stimulation freigesetzte Nettobeträge LH in ng/ml

	intakt	ovarektomiert	ovarektomiert + E_2
35 Tage	610	640	580
56 Tage	540	360	610
90 Tage	1220	260	620

Tabelle 17: Verhältnis FSH : LH bei intakten Ratten im Alter von 35, 56 und 90 Tagen vor und nach der Stimulation mit LH-RH

	Vor der Stimulation mit LH-RH	Nach der Stimulation mit LH-RH
35 Tage	$\frac{420}{100} = 4{,}20$	$\frac{620}{710} = 0{,}87$
56 Tage	$\frac{320}{120} = 2{,}66$	$\frac{580}{660} = 0{,}87$
90 Tage	$\frac{225}{180} = 1{,}25$	$\frac{380}{1400} = 0{,}27$

Tabelle 18: Verhältnis FSH : LH bei ovarektomierten Ratten im Alter von 35, 56 und 90 Tagen vor und nach der Stimulation mit LH-RH

	Vor der Stimulation mit LH-RH	Nach der Stimulation mit LH-RH
35 Tage	$\frac{1420}{180} = 7{,}88$	$\frac{1820}{820} = 2{,}22$
56 Tage	$\frac{1180}{160} = 7{,}38$	$\frac{1450}{520} = 2{,}79$
90 Tage	$\frac{1060}{240} = 4{,}42$	$\frac{1580}{500} = 3{,}16$

Tabelle 19: Verhältnis FSH : LH bei ovarektomierten und Östrogen blockierten Ratten im Alter von 35, 56 und 90 Tagen vor und nach der Stimulation mit LH-RH

	Vor der Stimulation mit LH-RH	Nach der Stimulation mit LH-RH
35 Tage	$\frac{850}{230} = 3{,}69$	$\frac{1490}{810} = 1{,}83$
56 Tage	$\frac{670}{100} = 6{,}70$	$\frac{1280}{710} = 1{,}80$
90 Tage	$\frac{650}{100} = 6{,}50$	$\frac{1125}{720} = 1{,}56$

5.2 Abbildungen

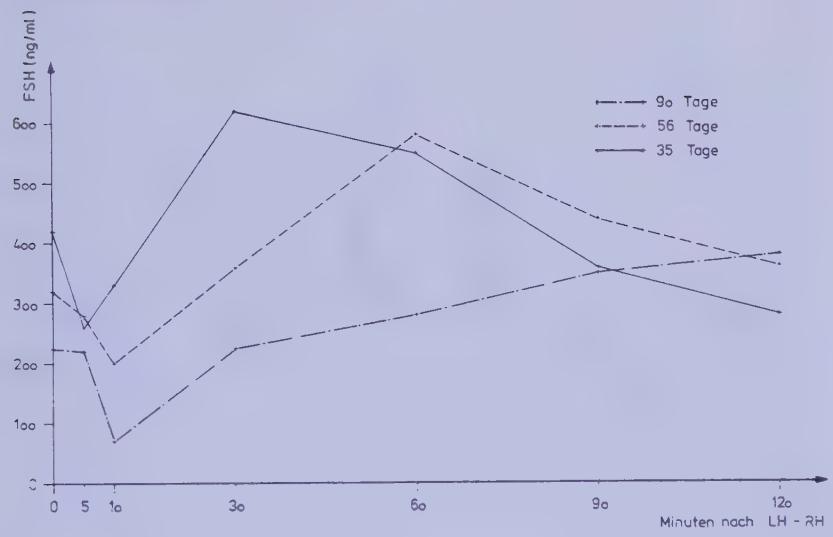


Abb. 1: FSH-Serumkonzentrationen in ng/ml nach LH-RH-Gabe bei intakten weiblichen Ratten verschiedenen Alters
Tabelle I

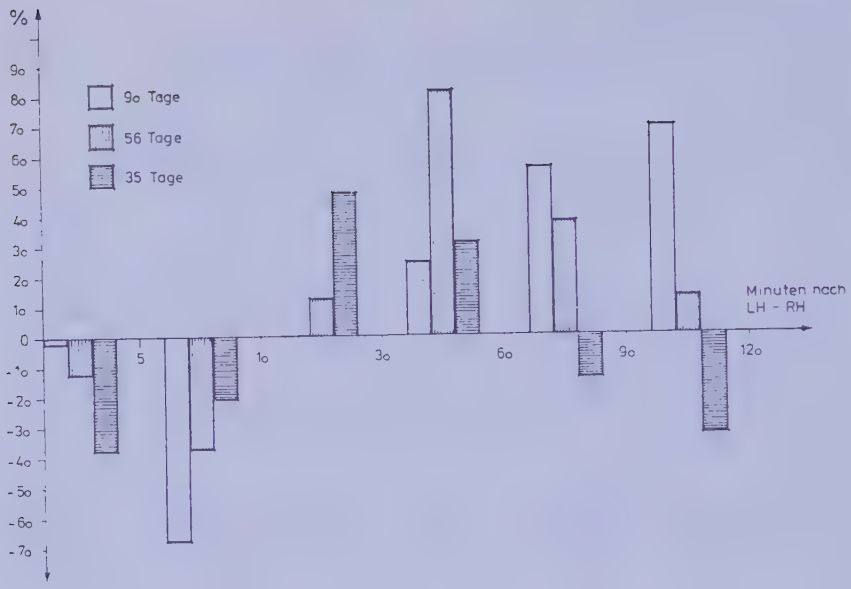


Abb. 2: FSH-Anstieg bzw. Abfall in v.H. nach LH-RH-Gabe bei intakten weiblichen Ratten verschiedenen Alters
Tabelle IV

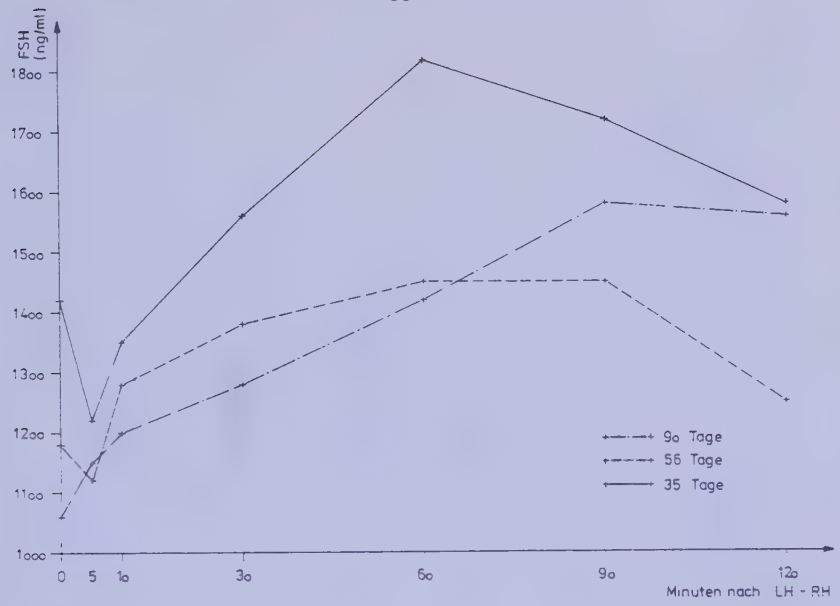


Abb. 3: FSH-Serumkonzentrationen in ng/ml nach LH-RH-Gabe bei ovarektomierten weiblichen Ratten verschiedenen Alters
Tabelle II

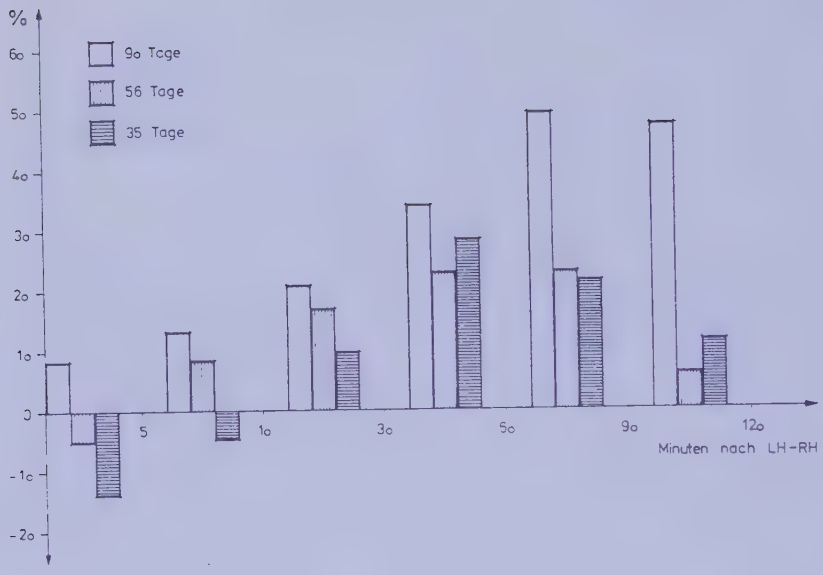


Abb. 4: FSH-Anstieg bzw. Abfall in v.H. nach LH-RH-Gabe bei ovarektomierten weiblichen Ratten verschiedenen Alters
Tabelle V

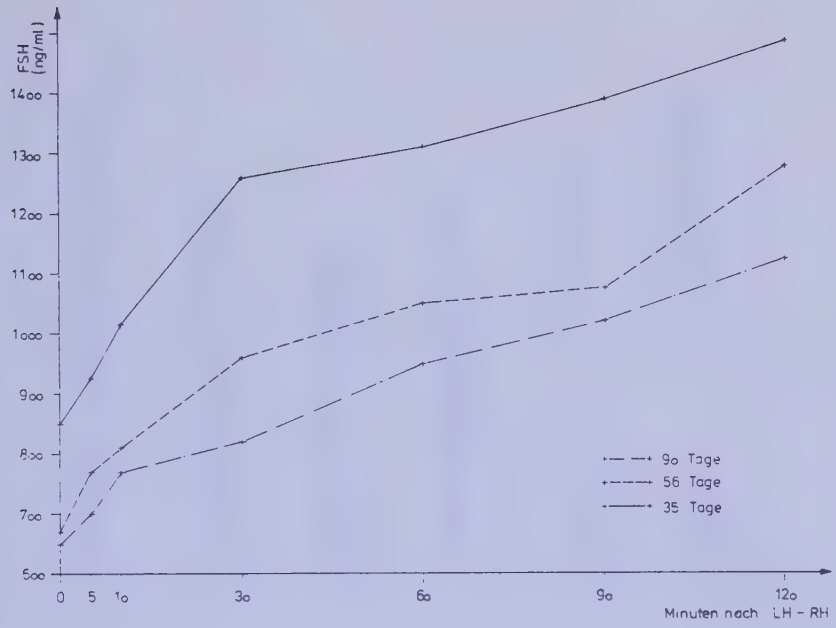


Abb. 5: FSH-Serumkonzentrationen in ng/ml nach LH-RH-Gabe bei ovarektomierten und östrogen-blockierten weiblichen Ratten verschiedenen Alters
Tabelle III

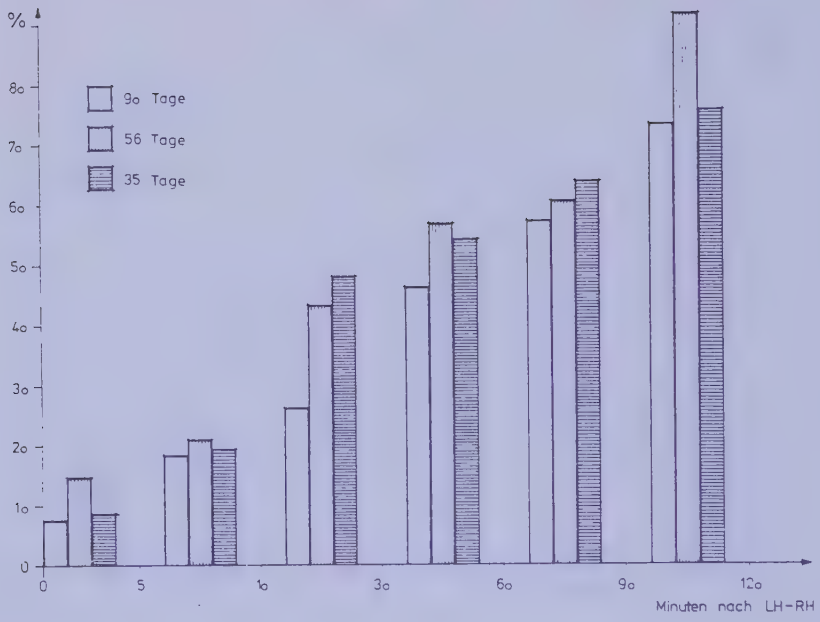


Abb. 6: FSH-Anstieg bzw. Abfall in v.H. nach LH-RH-Gabe bei ovarektomierten und mit Östrogen blockierten weiblichen Ratten verschiedenen Alters
Tabelle VI

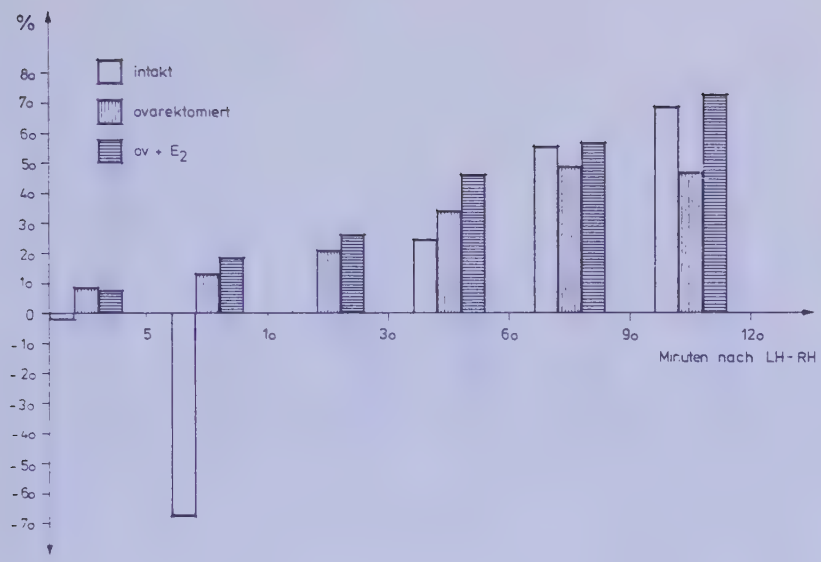


Abb. 7: FSH-Anstieg bzw. Abfall bei 90 tägigen Ratten nach LH-RH in v.H.

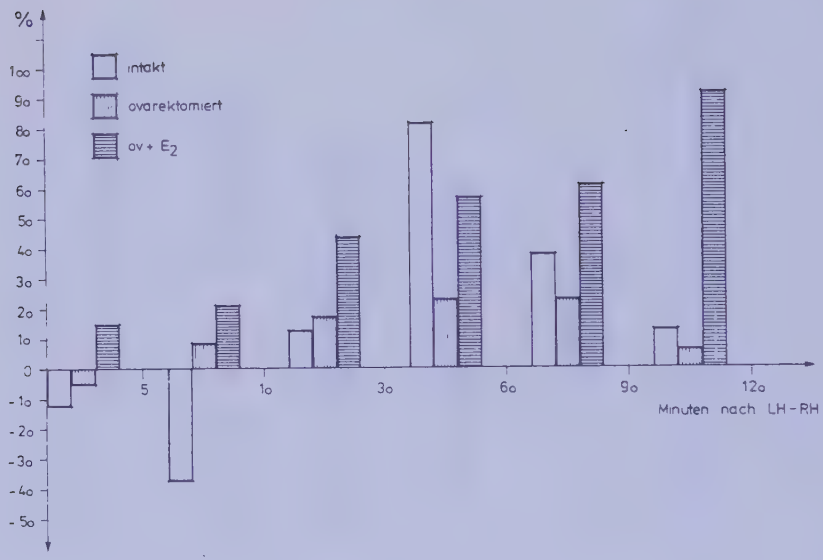


Abb. 8: FSH-Anstieg bzw. Abfall bei 56 tägigen Ratten nach LH-RH in v.H.

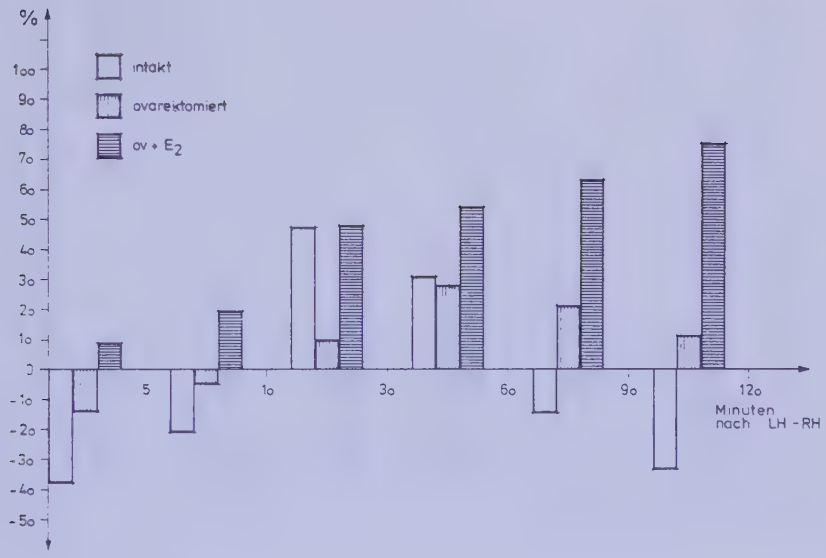


Abb. 9: FSH-Anstieg bzw. Abfall bei 35 tägigen Ratten nach LH-RH in v.H.

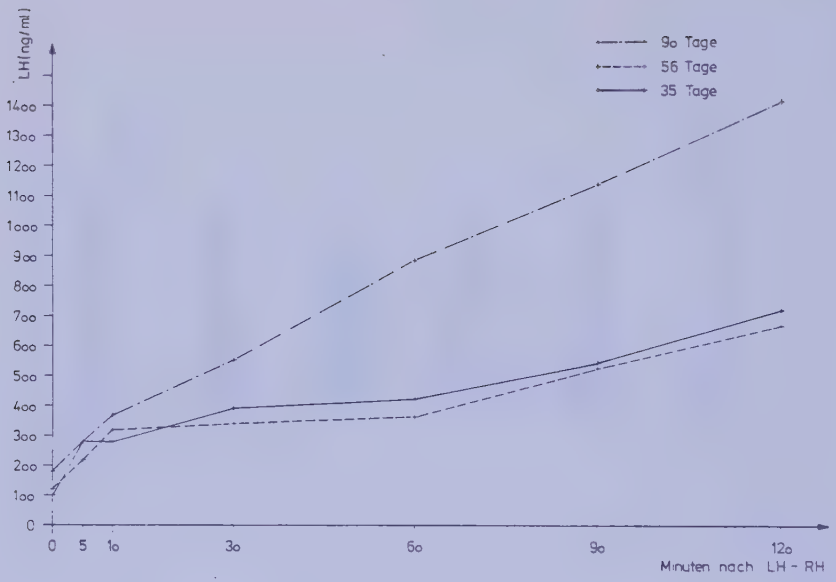


Abb. 10: LH-Serumkonzentrationen in ng/ml nach LH-RH-Gabe bei intakten weiblichen Ratten verschiedenen Alters
Tabelle IX

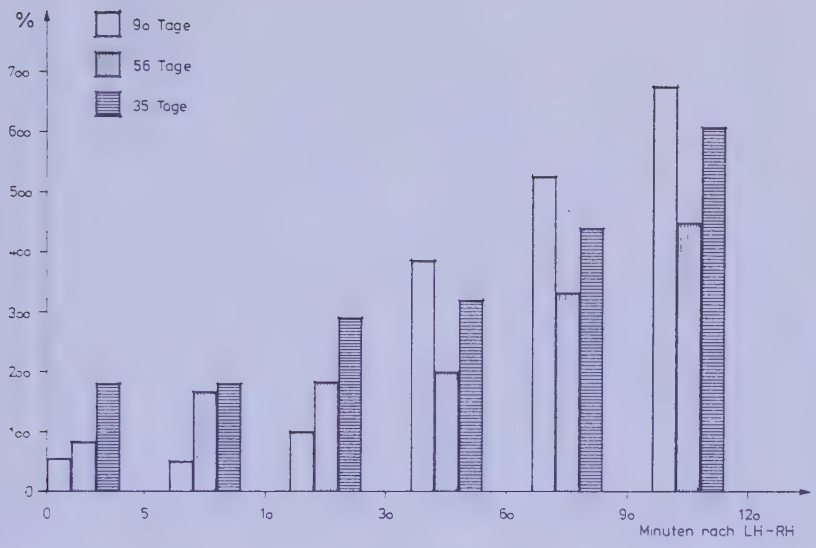


Abb. 11: LH-Anstieg in v.H. nach LH-RH-Gabe bei intakten weiblichen Ratten verschiedenen Alters
Tabelle XII

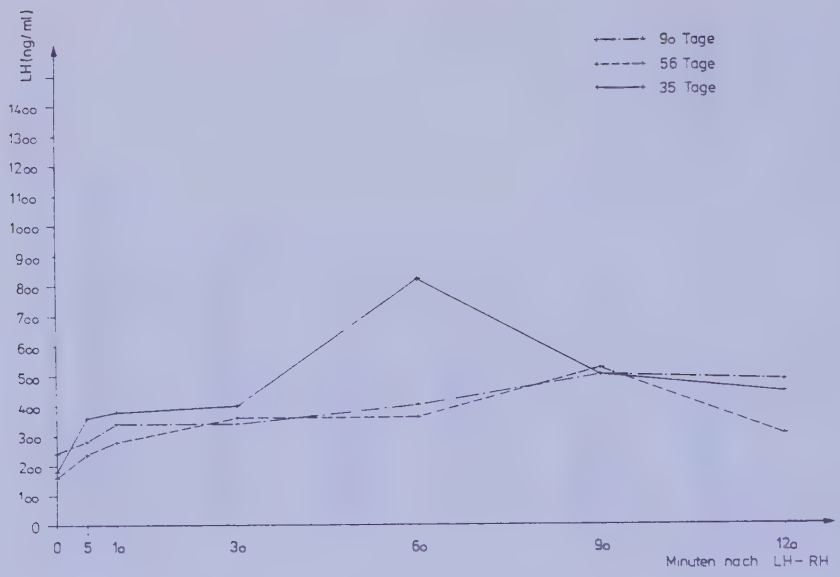


Abb. 12: LH-Serumkonzentrationen in ng/ml nach LH-RH-Gabe bei ovarektomierten weiblichen Ratten verschiedenen Alters
Tabelle X

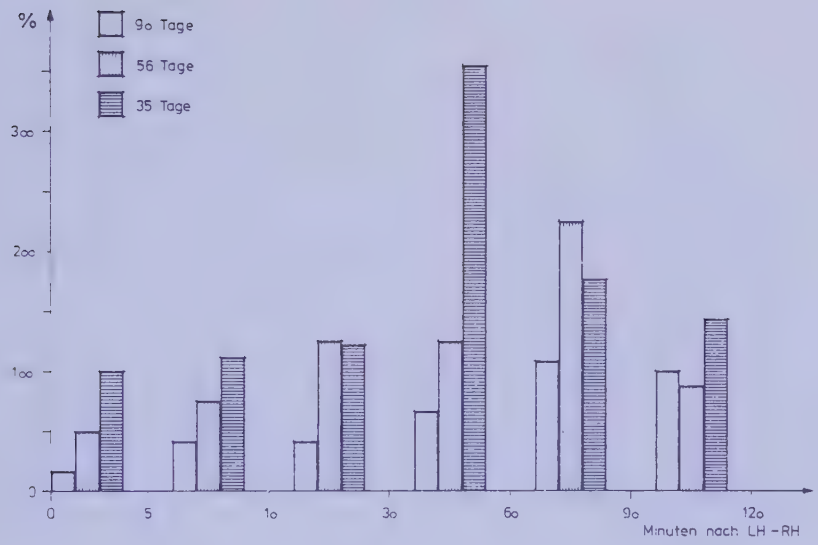


Abb. 13: LH-Anstieg in v.H. nach LH-RH-Gabe bei ovarektomierten weiblichen Ratten verschiedenen Alters
Tabelle XII

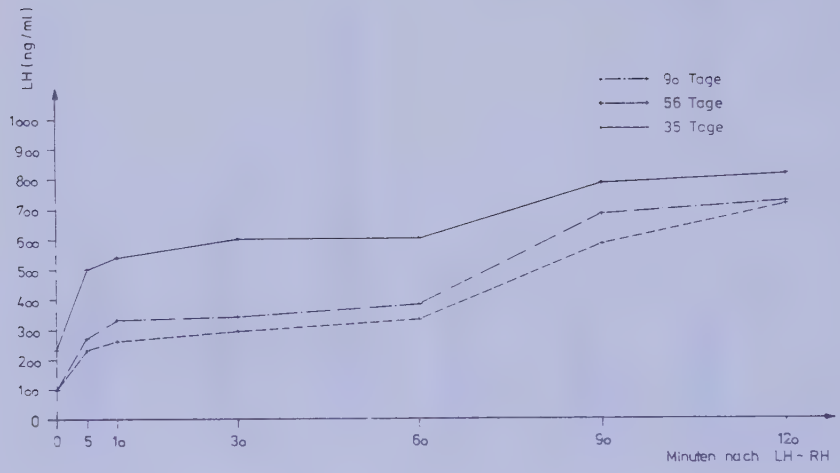


Abb. 14: LH-Serumkonzentrationen in ng/ml nach LH-RH-Gabe bei ovarektomierten und Östrogen blockierten weiblichen Ratten verschiedenen Alters
Tabelle XI

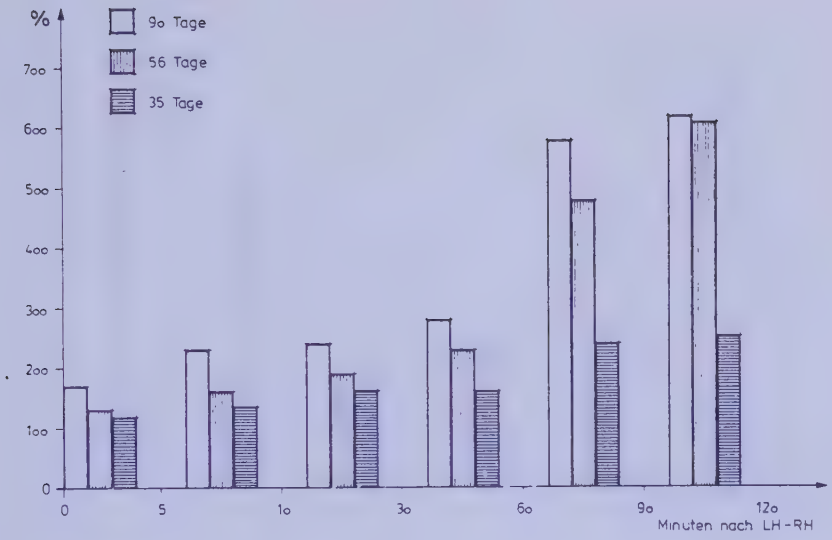


Abb. 15: LH-Anstieg in v.H. nach LH-RH-Gabe bei ovarektomierten und Östrogen blockierten weiblichen Ratten verschiedenen Alters
Tabelle XIV

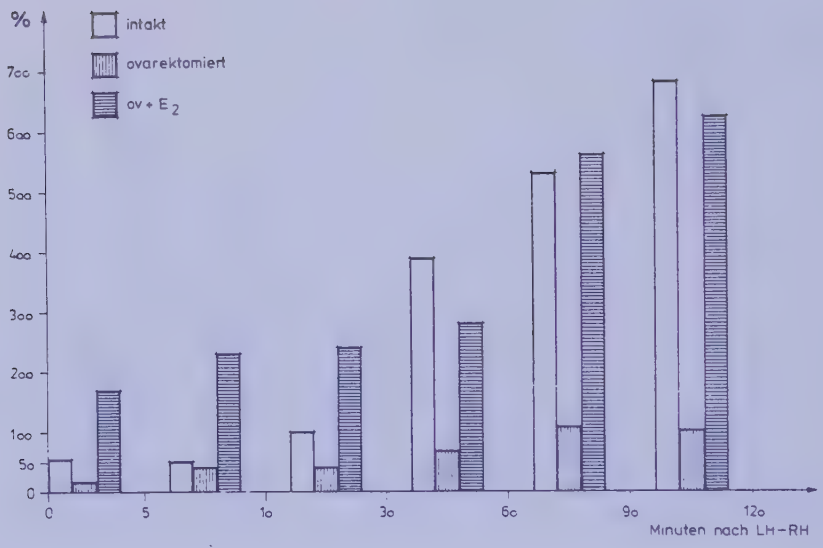


Abb. 16: LH-Anstieg in v.H. nach LH-RH-Gabe bei 90 tägigen Ratten

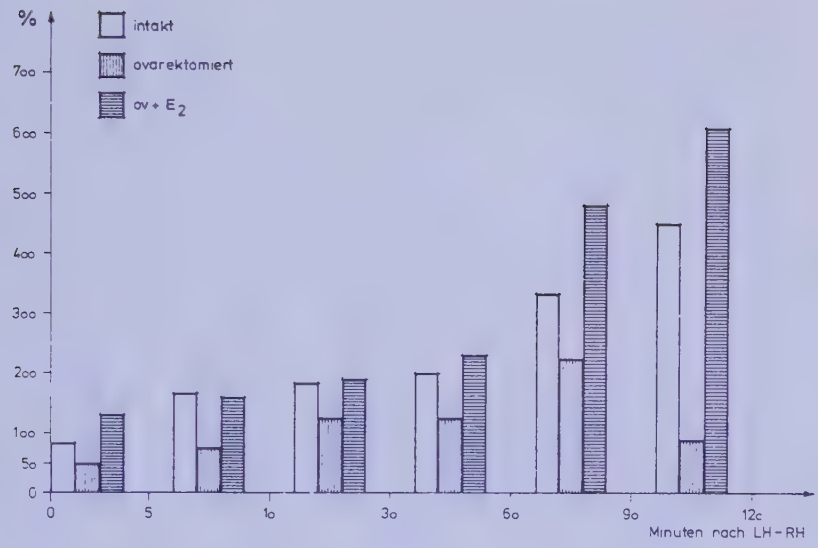


Abb. 17: LH-Anstieg in v.H. nach LH-RH-Gabe bei 56 tägigen Ratten

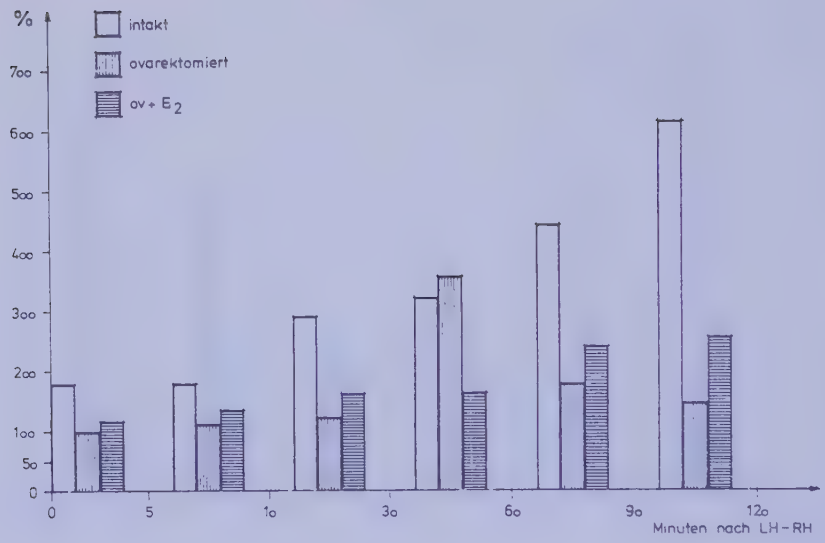


Abb. 18: LH-Anstieg in v.H. nach LH-RH-Gabe bei 35 tägigen Ratten

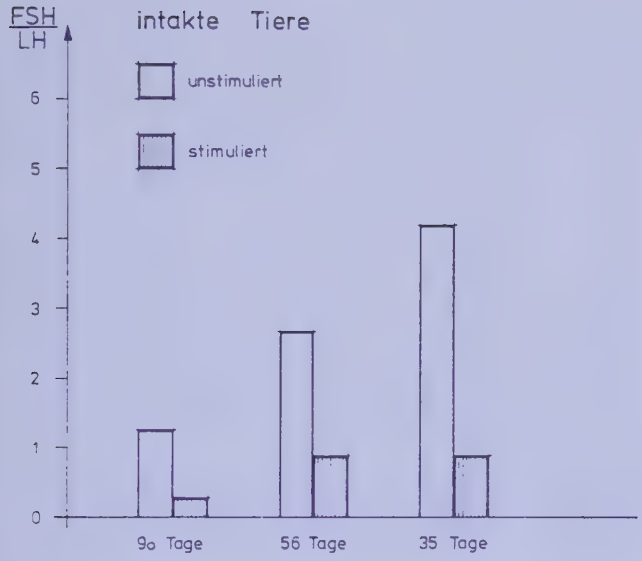


Abb. 19: Verhältnis FSH/LH vor und nach der Stimulation mit LH-RH bei intakten Ratten verschiedenen Alters
Tabelle XVII

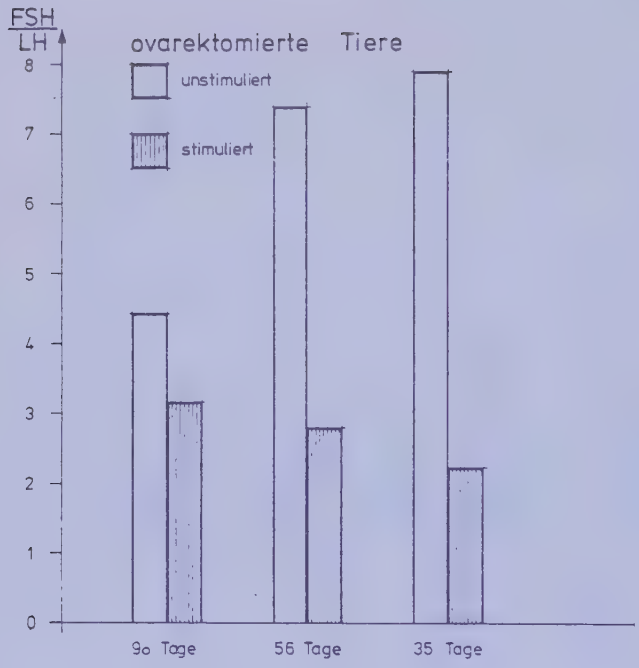


Abb. 20: Verhältnis FSH/LH vor und nach der Stimulation mit LH-RH bei ovarektomierten Ratten verschiedenen Alters
Tabelle XVIII

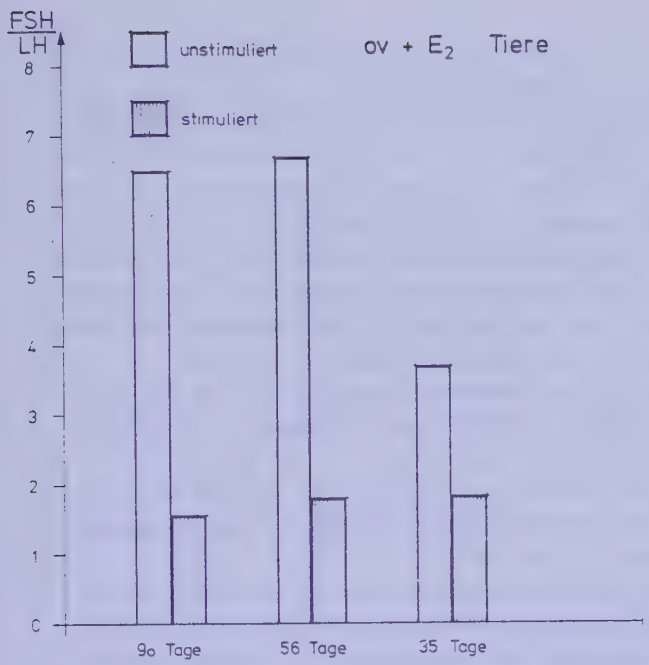


Abb. 21: Verhältnis FSH/LH vor und nach der Stimulation mit LH-RH bei ovarektomierten und Östrogen blockierten Ratten verschiedenen Alters
Tabelle XIX

6. Diskussion und Zusammenfassung

Die vorliegenden Ergebnisse möchte ich unter folgenden Gesichtspunkten erörtern:

1.) Auswirkungen der Kastration auf die hypophysäre Empfindlichkeit für LH-RH
2.) Auswirkungen der Östrogen-Substitution mit 1 ng/100 g KG Östrogen auf die hypophysäre Empfindlichkeit für LH-RH
3.) Unterschiedliche Empfindlichkeit der Hypophyse für LH-RH in Abhängigkeit vom Alter der Tiere
4.) Betrachtung des unterschiedlichen Sekretionsmodus für FSH und LH nach der Stimulation mit LH-RH
   - Inhibin
   - spezifisches FSH-RH
   - direkte Östrogenwirkung auf FSH-sezernierende Zellen
5.) Zwei-Pool-Theorie für LH

Die Annahme, daß die gonadalen Steroide einen bedeutenden Einfluß auf die FSH-und LH-Sekretion haben, findet in der vorliegenden Arbeit eine weitere Bestätigung.

Beobachtungen, daß die Serumwerte für FSH und LH bei männlichen und weiblichen Tieren nach der Kastration ansteigen (Ramirez & McCann 1963; Legan et al. 1973), zeigen ebenso wie die Suppression der Hormonspiegel durch exogenes Östrogen bzw. Androgen, daß die Hauptwirkung der Steroide inhibitorisch ist. Durch in vitro-Versuche mit Hypophysenzellkulturen konnte gezeigt werden, daß diese Steroidwirkung auf der Ebene der Hypophyse erfolgt (Labrie et al. 1978; Drouin et al. 1976 a,b; Drouin & Labrie 1976). Als weiteren Östrogeneffekt stellten Labrie et al. eine vermehrte FSH- und LH-Abgabe auf die Stimulation mit LH-RH hin fest. Entsprechend den Ergebnissen der genannten Autoren zeigte sich auch bei unseren Tieren ein Anstieg der Serumgonadotropine auf die Kastration hin. Auffallend war ein wesentlich stärkerer Anstieg der FSH-Werte, als der LH-Werte. Es ist anzunehmen, daß bei einem Wegfall des negativen Feed-back der ovariellen

Steroide das FSH leichter und in größeren Mengen mobilisierbar ist als das LH. Das durch die Kastration bedingte Östrogendefizit wird dann in einer verminderten Sensibilität der Hypophyse für LH-RH deutlich. Die prozentualen Anstiegswerte der FSH- und LH-Spiegel pro Zeitintervall liegen nach initialen Schwankungen immer unter den bei den intakten Tieren gemessenen Werten. Die mit Östrogen behandelten Tiere zeigen von Anfang an höhere Steigerungswerte ihrer Serumkonzentration als die intakten und die kastrierten Tiere. Hieraus ist zu schließen, daß für ein maximales Ansprechen der Hypophyse auf LH-RH eine bestimmte Östrogenmenge notwendig ist. Andernfalls kommt es nur zu einem "Basis-output" an FSH und LH. Die Ursache für einen in den ersten 30 Minuten nach LH-RH-Gabe auftretenden kräftigeren FSH-Anstieg bei den kastrierten gegenüber den intakten Tieren ist wohl in einer anfänglich größeren Sensibilität der Hypophyse infolge des Östrogenmangels zu sehen. Dieser Effekt ist jedoch nur vorübergehend. In der Folgezeit liegen die prozentualen Anstiegswerte pro Zeitintervall weit hinter denen der intakten und der mit Östrogen behandelten Tiere. Im Falle des LH zeigte sich der durch das Östrogendefizit bedingte verminderte Gonadotropinoutput schon in den ersten 5 Minuten nach LH-RH.

Die Östrogengabe an die kastrierten Tiere (1 ng/100 g KG) hatte je nach Alter der Tiere eine unterschiedliche Wirkung. während es bei den 35 Tage alten Tieren zu einem Anstieg sowohl des FSH als auch des LH-Serumspiegels kam, zeigten die älteren Tiere zwar einen Anstieg des FSH-Serumwertes, jedoch einen Abfall des LH-Wertes. Aus dieser unterschiedlichen Reaktion auf die Östrogenapplikation läßt sich eine altersabhängig verschiedene Östrogenwirkung ableiten. Mit dem Älterwerden der Tiere scheint ein positiver Feed-back zwischen Östrogen und LH-Sekretion einem negativen Feed-back Platz zu machen. Der positive Feed-back zwischen Östrogen und hypophysärer Empfindlichkeit für LH-RH zeigt sich im Falle der FSH-Abgabe in allen Altersgruppen. Die pro Zeitintervall erreichten Anstiegswerte der FSH-Konzentration

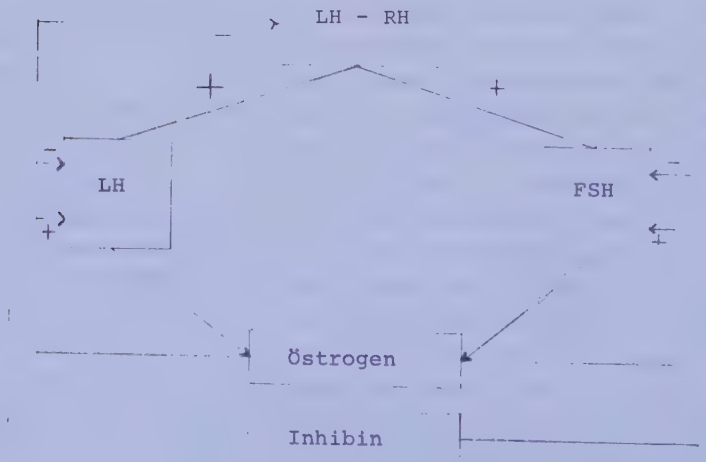
liegen immer über den bei den intakten Tieren erreichten prozentualen Steigerungswerten. Die LH-Sekretion ist bei den älteren Tieren ebenfalls infolge des positiven Feedback durch das applizierte Östrogen gesteigert, nicht aber bei den 35 Tage alten Tieren. Diese zeigen auf die LH-RH-Stimulation hin größere prozentuale Steigerungswerte ihrer LH-Spiegel in intaktem Zustand als nach vorheriger Östrogengabe. Die applizierte größere Östrogenmenge wirkte sich somit negativ bezüglich der hypophysären Empfindlichkeit für LH-RH aus, nicht aber die physiologisch vorhandene kleinere Östrogenmenge, wie der Vergleich mit den kastrierten Tieren zeigt. Die Wirkung des Östrogens ist somit sowohl alters- als auch dosisabhängig. Da die in vivo-Behandlung mit Östrogen zu niedrigeren Plasma-LH-Spiegeln bei gleichzeitig erhöhter Ansprechbarkeit der Hypophyse auf LH-RH führte, ist es möglich, daß die Östrogene auf der Ebene des Hypothalamus einen inhibitorischen Effekt bezüglich der LH-Sekretion ausüben. Es besteht jedoch auch die Möglichkeit, daß sie, wie bei der weiblichen Ratte gezeigt wurde, eine positive Wirkung bezüglich der LRH-Abgabe haben (Baldwin et al. 1974; Ferland et al. 1976). So zeigten Labrie et al. (1978) eine leichte Stimulation der FSH- und LH-Plasmawerte bei kastrierten Tieren beiden Geschlechts nach der Gabe einer niedrigen Dosis Östrogen-Benzoat. Das gleiche Ergebnis brachten Versuche von Swerdloff & Walsh (1973) und Legan et al. (1973). Es ist somit als gesichert anzusehen, daß Östrogen ab einer bestimmten Dosis einen inhibitorischen Effekt sowohl auf die FSH- als auch auf die LH-Sekretion bewirkt. Ein positiver Effekt bei niedriger Dosis und ein in Abhängigkeit von der sexuellen Reife unterschiedlicher Östrogeneffekt ist ebenfalls nicht zu übersehen.

Als weiteres Ergebnis unserer Versuche zeigt sich, daß die jüngsten, 35 Tage alten Tiere unabhängig von jeglicher Manipulation die größte Sensibilität für exogenes LH-RH aufweisen. Bei dieser Altersgruppe setzt die FSH- und LH-Ausschüttung auf die Stimulation hin am schnellsten und kräftigsten ein, der peak liegt vor dem der älteren Tiere. Mit dem Älter-

werden der Tiere wird die Reaktion dann zunehmend träger. Die Beziehung zwischen Ansprechbarkeit der Hypophyse auf exogenes LH-RH und sexueller Reifung wurde von Debeljuk et al. (1972 a,b) untersucht. Sie stellten fest, daß die Sensibilität der Hypophyse zum Zeitpunkt der Pubertät am größten ist. Einige Autoren stellten eine Abnahme an mittels Bioassay meßbarem FSH-RH im Hypothalamus (Kragt & Dahlgren 1972; Watanabe & McCann 1969) und einen verminderten LRH-Gehalt (Ramirez & Sawyer 1966) zum Zeitpunkt des "vaginal opening" bei der Ratte fest. Schließt man hieraus auf eine vermehrte Abgabe an endogenen Releasingfaktoren, so wäre der hohe LRH-Spiegel eine Erklärung für das starke Ansprechen der 35 Tage alten Tiere auf das exogene LH-RH. Entsprechende Beobachtungen wurden bei Jungen und Mädchen in der Pubertät gemacht. (Job et al. 1972).

Vergleicht man die infolge der LH-RH-Gabe erreichten Gonadotropinwerte so wird deutlich, daß die LH-Sekretion bevorzugt stimuliert wurde. Während die prozentualen Anstiegswerte pro Zeitintervall für das LH im Bereich von Hunderterzahlen liegen, zeigen die FSH-Serumwerte nur Anstiegswerte im Bereich von Zehnerzahlen. Diese Tatsache und der unterschiedliche Verlauf der Blutspiegelkurven für beide Hormone führt zu der Frage, ob nicht noch eine weitere Substanz in den Regelkreis Hypothalamus-Hypophyse-Gonaden mit einbezogen ist. Eine nicht-steroidale Substanz, Inhibin, wurde schon 1932 von Mc Cullagh postuliert. Diese in den Testes befindliche Substanz sollte spezifisch die hypophysäre FSH-Sekretion beeinflussen. Für eine weitgehende Ähnlichkeit einer auch aus den Ovarien extrahierten Substanz mit testikulärem Inhibin spricht die Tatsache, daß sie in der Lage ist, die FSH-Sekretion sowohl bei weiblichen, als auch bei männlichen Tieren zu senken. Ein bedeutender Aspekt des "Inhibins" ist seine Spezifität für FSH. Steinberger & Steinberger (1976) berichteten über einen inhibitorischen Effekt von Sertolizellmedium auf die basale FSH-Sekretion von HVL-Zellkulturen. Labrie et al. (1978) und Baker et al. (1976) zeigten, daß "rete-testis fluid" sowohl die basale, als auch die LH-RH induzierte FSH-

Sekretion unterdrückt. Eine wesentlich geringere Beeinflussung der LH-Abgabe wurde ebenfalls beobachtet. Ein solcher, vorzugsweise die FSH-Sekretion beeinflussender Effekt des Inhibins, der jedoch nicht vollständig selektiv ist, wurde ebenfalls bei in vivo-Versuchen beobachtet. Franchimont et al. (1975 b) stellten einen Anstieg beider Gonadotropine nach der Injektion von Antiserum gegen Samenflüssigkeit von Stieren bei der weiblichen Ratte fest. So ist, analog zu LH-RH, das vorzugsweise die LH-Sekretion stimuliert (Kastin et al. 1971; Ferland et al. 1976), dem Inhibin eine dosisabhängige, die FSH-Sekretion bevorzugt beeinflussende Rolle zuzuschreiben. Es ist anzunehmen, daß Inhibin mit den Steroiden und LH-RH die FSH- und LH-Sekretion reguliert und vielleicht die beim Menschen (Grumbach et al. 1974; Franchimont et al.1975b) und beim Tier (Ferland et al. 1976) beobachteten Änderungen des Verhältnisses FSH/LH im Laufe der Entwicklung erklären hilft.



Interaktion von LH-RH, Östrogen und "Inhibin" bei der Kontrolle der FSH- und LH-Sekretion

Als weitere Erklärung des unterschiedlichen Blutspiegelverlaufes von FSH und LH wurde ein direkter Einfluß des Östrogens auf die FSH-sezernierenden Zellen in Erwägung gezogen (Gay et al. 1974). Auch das Vorhandensein eines spezifischen FSH-RH konnte bis jetzt weder ausgeschlossen noch nachgewiesen werden. Als mögliche FSH-RH-Aktivierung könnte der positive "auto-short-feed-back" des FSH in Frage kommen, der bei präpubertalen Ratten nachgewiesen wurde (Ojeda et al. 1969).

Die von uns beobachtete stärkere LH-Abgabe der mit Östrogen behandelten Tiere im Vergleich zu den kastrierten und intakten Tieren stimmt überein mit den Ergebnissen von Yen et al. (1974) und van den Berg et al. (1974). Als Erklärung für dieses verstärkte Ansprechen der mit Östrogen behandelten Tiere auf LH-RH schlugen die genannten Autoren das Vorhandensein mehrerer Komponenten der LH-Sekretion vor. Eine biphasige LH-Sekretion bei konstanter LH-RH-Stimulation wurde bei Kindern in, aber nicht vor der Pubertät (Reiter et al. 1975), bei Frauen mit regelmäßigen Zyklen (Wang et al. 1976; Yen et al. 1975) und bei Frauen mit Hypogonadismus (Lasley et al. 1975) beschrieben. Yen et al. (1977) kamen durch in vivo-Versuche mit Frauen mit regelmäßigen Zyklen zu der Ansicht, daß während aller Zyklusphasen zwei funktionelle LH-pools vorhanden sind, deren Größe und Aktivität sowohl vom ovariellen Steroid-feed-back, als auch vom Muster der hypothalamischen LH-RH-Sekretion beeinflußt sind. Nach den genannten Autoren induziert LH-RH nicht nur Synthese und Speicherung (Pool 2) und Abgabe von LH (Pool 1), sondern aktiviert auch Pool 2 indem es das dort befindliche LH in eine sekretionsbereitere Form überführt. Hierbei sprechen Yen et al. dem Östrogen eine die LH-RH-Effekte unterstützende Wirkung zu. Das Östrogen scheint eine "permissive action" für LH-RH zu bewirken, oder die durch LH-RH bedingte LH-Sekretion zu verstärken. In der Zyklusmitte induziert dann der vermutete endogene LRH-Anstieg (Malacara et al. 1972; Arimura et al. 1974) zusammen mit der Entwicklung des östrogenabhängigen "self-priming-Effekt" des LH-RH eine Verschiebung der LH-Kapazität vom zweiten in den ersten Pool mit konsekutiv vermehrter LH-Sekretion. Hier-

bei wird der negative Feed-back des Östrogens überwunden. Unter Zugrundelegung dieser "Zwei-Pool-Theorie" kann man die in der vorliegenden Arbeit gefundenen Ergebnisse folgendermaßen interpretieren:

Die bei den kastrierten Tieren verminderte Ansprechbarkeit der Hypophyse für LH-RH, die nur zu einem sogenannten "Basisoutput" an LH führte zeigt sich als Ergebnis einer alleinigen Mobilisierung von Pool 1. Das dort in einer abgabebereiten Form gespeicherte LH wird sezerniert. Die Verstärkung dieses LH-RH-Effektes bei Vorhandensein von Östrogen wird deutlich, wenn man diese Reaktion mit der der intakten und vor allem mit der der mit Östrogen behandelten Tiere vergleicht. Die erhaltenen Ergebnisse lassen den Schluß zu,daß es beim Vorhandensein von Östrogen auch zu einer Mobilisierung von Pool 2 kommt mit infolgedessen vermehrter LH-Sekretion auf die Stimulation hin. Als Ursache für dieses Phänomen wurde eine Zunahme der Rezeptoren für LH-RH in Erwägung gezogen. Mit der Reifung der Tiere, d.h. mit der Zunahme des endogenen Östrogenspiegels wird dieser Effekt umso ausgeprägter, wie sich aus dem stärkeren Ansprechen der älteren Tiere auf die Stimulation hin zeigt. Der Vergleich der Reaktion von intakten und mit Östrogen behandelten Tieren zeigt ebenfalls die Abhängigkeit des Effektes von der Östrogenmenge.

Es stellt sich die Frage, ob das "Zwei-Pool-Modell" in dieser Form stabil genug ist, die LH-Spiegel bei Zyklusbeginn niedrig zu halten. Der negative Feed-back des ovariellen Östrogens könnte auch schon vor dem physiologischen Zeitpunkt, nämlich in der Zyklusmitte,durch das vorzeitige Auftreten des "self-priming-Effekts" von LRH überwunden werden und der oben geschilderte positive Feed-back zwischen Östrogen und LRH zum Tragen kommen. Möglicherweise sind noch weitere Faktoren an der Regulation dieser Vorgänge beteiligt, deren Rolle bis jetzt noch nicht oder nur teilweise aufgedeckt ist.

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

AMATAYAKUL, K., RYAN, R., UOZUMI, T and ALBERT, A.:
A Reinvestigation of Testicular-Anterior Pituitary Relationship in the Rat: I. Effects of Castration and Cryptorchidism.
Endocrinology 88, 872-880 (1971)

ARIMURA, A., A.J. KASTIN, and A.V. SCHALLY:
Immunoreactive LH-releasing hormone in plasma-midcycle elevation in women.
J.Clin.Endocrinol. Metab. 38, 510 (1974)

BAKER, H.W.G., W.J. BREMMER, H.G. BURGER, D.M. DeKRETSER, A. DULMANTIS, L.W. EDDIE, B. HUDSON, E.S. KEOG, V.W.K. LEE & G.C. RENNIE:
Testicular control of follicle stimulating hormone secretion.
Recent Progr.Hormone Res. 32, 429 (1976)

BALDWIN, D., D.M. BALDWIN, V.D. RAMIREZ & C.H. SAWYER:
Pituitary responsiveness to LHRH in short-term ovariectomized rats given a single injection of estrogen.
Fed. Proc. 33, 212 (1974)

BLAKE, C.A., R.L. NORMAN and C.H. SAWYER:
Localization of inhibitory actions of estrogen and nicotine on release of luteinizing hormone in rats.
Neuroendocrinology 16, 22-42 (1974)

BLOCH, G.J., C.L. KRAGT and J.F. MASKEN:
Plasma LH-Levels in Male Rats of Various Ages: Effects of Castration and Treatment with Testosterone Propionate (TP).
Fed.Proc. 30, 475 (1971)

CRITCHLOW, W. and M.E. BAR-SELA:
Control of the onset of puberty
In Martini L. and W.F. Ganong (eds).
Neuroendocrinology vol. II,
Academic Press, New York pp.101-162

DAVIDSON J.M.:
Hypothalamic-pituitary regulation of puberty:
Evidence from animal experimentation
In Grumbach M.M., G.D. Grave and F.E. Mayer (eds), Control of the Onset of Puberty.
John Wiley & Sons, New York, p.79 (1974)

DEBELJUK, L., A. ARIMURA and A.V. SCHALLY:
Effect of estradiol and progesterone on the LH release induced by LH-releasing hormone (LH-RH) in intact diestrous rats and anestrous ewes.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 139, 774-777 (1972)

DEBELJUK, L., A. ARIMURA and A. SCHALLY:
Studies on the pituitary responsiveness to luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) in intact male rats of different ages.
Endocrinology 90, 585-588 (1972a)

DONOVAN, B.T., and J.J. VAN DER WERFF TEN BOSCH:
Physiology of Puberty
Williams and Wilkins, Baltimore, (1965)

DROUIN, J., L. LAGACÉ & F. LABRIE:
Estradiol-induced increase of the LH responsiveness to LH releasing hormone (LHRH) in rat anterior pituitary.
Endocrinology 99, 1477 (1976)

DROUIN, J. & F. LABRIE:
Selective effect of androgens on LH and FSH release in anterior pituitary cells in culture.
Endocrinology 98, 1528 (1976)

EICHNER, M., K. RAGER and D. GUPTA:
Concentration of Luteinizing Hormone and Follicle-Stimulating Hormone in Pituitary and Serum of Male Rats and the Influence of Luteinizing Hormone Releasing Hormone in Relation to Sexual Maturation.
J. Endocr. 65, Proc. Soc. Endocr. 114th Meeting (1975)

ELDRIDGE, J.C. and V.B. MAHESH:
Pituitary-Gonadal Axis before Puberty: Evaluation of Testicular Steroids in the Male Rat.
Biol. Reprod. 11, 385-397 (1974)

FERLAND L., J. DROUIN & F. LABRIE:
Role of sex steroids on LH and FSH secretion in the rat.
In: F. Labrie, J. Meites and G. Pelletier,Eds.
Hypothalamus and Endocrin Functions, p. 191.
Plenum Press, New York (1976)

FRANCHIMONT, P., S. CHARI & A. DEMOULIN:
Hypothalamus-pituitary-testis interaction.
J. Reprod. Fertil. 44, 335 (1975b)

GAY, V.L., and N.W. DEVER:
Effects of Testosterone Propionate and Estradiol Benzoate - Alone or in Combination - on Serum LH and FSH in Orchidectomized Rats.
Endocrinology 89, 161-168 (1971)

GOLDMAN, B., Y.R. GRAZIA, I.A. KAMBERI and J.C. PORTER:
Serum Gonadotropin Concentrations in Intact and Castrated Neonatal Rats.
Endocrinology 88, 771-776 (1971)

GRUMBACH, M.M., J.C. ROTH, S.L. KAPLAN & R.P. KELCH:
Hypothalamic-pituitary regulation of puberty: evidence and contents derived from clinical research.
In: Grumbach M.M., G.D. Grave and F.E. Meyer, Eds.
The Control of the onset of Puberty, p. 15
Wiley & Sons, New York (1974)

GUILLEMIN, R. and B. ROSEMBERG:
Humoral hypothalamic control of anterior pituitary: a study with combined tissue cultures.
Endocrinology 57, 599-607 (1955)

GUPTA, D.:
Gonodal Steroids and Gonadotropin Feedback Regulation of Mammalian Sexual Maturation.
In: Crosignani and James, Recent Progress in Reproductive Endocrinology, pp. 543-564. London: Academic Press (1974)

HOHLWEG, W. und M. DOHRN:
Beziehungen zwischen Hypophysenvorderlappen und Keimdrüsen.
Wien.Arch.Inn.Med. 21, 337-350 (1931)

JOB, J.C., P.E. GARNIER, J.L. CHAUSAIN, E. BINET, P. RIVAILLE & G. MILHAUD:
Effects of synthetic luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) on serum gonadotropins (LH and FSH) in normal children and adults.
Rev.Europ.Etud.Clin.Biol. 17, 411-414 (1972)

KALRA, P.S., C.P. FAWCETT, L. KRULICH and S.M. MCCANN:
The Effect of Gonadal Steroids on Plasma Gonadotropins and Prolactin in the Rat.
Endocrinology 92, 1256-1268 (1973)

KASTIN, A.J., A.V. SCHALLY & C. GUAL:
Dose-response relationship of luteinizing hormone to luteinizing hormone-releasing hormone in man.
J. clin. Invest. 50, 1551 (1971)

KRAGT, C.L. & J. DAHLGREN:
Development of neural regulation of follicle stimulating hormon (FSH) secretion.
Neuroendocrinology 9, 30-40 (1972)

LABRIE et al.:
Interactions between LH-RH, sex-steroids and "inhibin" in the control of LH and FSH secretion.
Internat.Journal of Andrology, suppl. 2 (1978)

LASLEY, B.L., C.F. WANG and S.S.C. YEN:
The effects of estrogen and progesterone on the functional capacity of the gonadotrophs.
J.Clin. Endocrinol.Metab.41, 820 (1975)

LEGAN, S.J., V.L. GAY & A.R. MIDGELEY Jr.:
LH release following steroid administration in ovariectomized rats.
Endocrinology 93, 781 (1973)

LIBERTUN, C., R. ORIAS and S.M. McCANN:
Biphasic effect of estrogen on the sensitivity of the pituitary to luteinizing hormone-releasing factor (LRF).
Endocrinology 94, 1094-1100 (1974)

MALACARA, J.M., E. SEYLER Jr. and S. REICHLIN:
Luteinizing hormone-releasing factor activity in peripheral blood from women during the midcycle luteinizing hormone ovulatory surge.
J.Clin.Endocrinol.Metab.34, 271 (1972)

MATSUO, H., Y. BABA, R.M.G. NAIR, A. ARIMURA and A.V. SCHALLY:
Structure of the porcine LH- and FSH-releasing hormone.
I. The proposed amino acid sequence.
Biochem.biophys. Res. Comm. 43, 1334-1339 (1971)

McCANN, S.M., S. TALEISNIK and H.M. FRIEDMAN:
LH-releasing activity in hypothalamic extracts.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 104, 432-434 (1960)

McCANN, S.M., S. OJEDA and A. NEGRO-VILAR:
In: M.M. Grumbach, G.D. Grave and F.E. Mayer (eds):
Control of Onset of Puberty.
p. 1, Wiley, New York (1974)

McCULLAGH, D.R.:
Dual endocrine activity of the testis.
Science 76 19 (1932)

NEGRO-VILAR, A., R. ORIAS and S.M. McCANN:
Evidence for a pituitary site of action for the acute inhibition of LH release by estrogen in the rat.
Endocrinology 92, 1680-1684 (1973)

NEGRO-VILAR, A.R., L. KRULICH and S.M. McCANN:
Changes in Serum Prolactin and Gonadotropins during Sexual Development of the Male Rat.
Endocrinology 93, 660-664 (1973)

OJEDA, S.R. and V.D. RAMIREZ:
Endocrinology 84, 786 (1969)

ORIAS, R., A. NEGRO-VILAR, C. LIEBERTUN and S.M. McCANN:
Inhibitory effect on LH release of estradiol injected into the third ventricle.
Endocrinology 94, 852-855 (1974)

RAGER, K., J. ZARZYCKI, M. EICHNER, and D.GUPTA:
Effects of Experimental Bilateral Cryptorchidism and Castration on the Plasma Gonadotropins in Male Rats during Sexual Maturation.
Res.exp.Med. 165, 55-59 (1975)

RAMIREZ, V.D. and S.M. McCANN:
Comparison of the Regulation of Luteinizing Hormone (LH) Secretion in Immature and Adult Rats.
Endocrinology 72, 452-464 (1963)

RAMIREZ, V.D. and S.M. McCANN:
Endocrinology 78, 412 (1965)

RAMIREZ, V.D. and C.H. SAWYER:
Changes in hypothalamic luteinizing hormone releasing factor (LHRF) in the female rats during puberty.
Endocrinology 78, 958-964 (1966)

RAMIREZ, V.D.:
Endocrinology of puberty.
In: Greep R.O. (ed). Handbook of Physiology, vol. II, Part I, Female Reproductive System.
American Physiological Society, Washington D.C., p.1(1973)

REITER, E.O., G.E. DUCKETT and A.W. ROOT:
Effect of constant infusion of luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) upon gonadotropin secretion in children.
Pediatr.Res. 9, 294 (A 223)(1975)

SAWYER, C.H. and J. HILLIARD:
Sites of feedback action of estrogen and progesterone.
3rd Int. Congr. Horm. Ster. Excerpta Med. Int. Congr. Series No. 219, pp. 716-721 (1971)

SHIN, S.H. and C. HOWITT:
Effects of Castration on Luteinizing Hormone and Luteinizing Releasing Hormone in the Male Rat.
J.Endocr. 65, 447-448 (1975)

SMITH, E.R. and J.M. DAVIDSON:
Differential Responses to Hypothalamic Testosterone in Relation to Male Puberty.
Amer. J. Physiol. 212, 1385-1390 (1967)

SMITH, E.R. and J.M. DAVIDSON:
Feedback suppression of LH with maintained pituitary sensitivity: evidence for a cerebral action of estrogen.
Neuroendocrinology 14, 369-373 (1974)

STEINBERGER A. & E. STEINBERGER:
Secretion of an FSH-Inhibiting factor by cultured Sertoli cells.
Endocrinology 99, 918 (1976)

SWERDLOFF, R.S. and P.C. WALSH:
Testosterone and Oestradiol Suppression of LH and FSH in Adult Male Rats: Duration of Castration, Duration of Treatment and Combined Treatment.
Acta endocr. (Kbh.) 73, 11-21 (1973a)

SWERDLOFF, R.S., H.S. JACOBS and W.D. ODELL:
Hypothalamic-Pituitary-Gonadal Interrelationships in the Rat during Sexual Maturation.
In B.B. Saxena, C.G. Beling and H.M. Gandy, Gonadotropins, pp. 546-561, New York: John Wiley (1972a)

SWERDLOFF, R.S., P.C. WALSH and W.D. ODELL:
Control of LH and FSH Secretion in the Male: Evidence that Aromatization of Androgens to Estradiol is Not Required for Inhibition of Gonadotropin Secretion.
Steroids 20, 13-22 (1972b)

SWERDLOFF, R.S., P.C. WALSH, H.S. JACOBS and W.D. ODELL:
Serum LH and FSH during Sexual Maturation in the Male Rat: Effect of Castration and Cryptorchidism.
Endocrinology 88, 120-128 (1971)

SWERDLOFF, R.S., P.K. GROVER, H.S. JACOBS and J. BAIN:
Search for a Substance which Selectively Inhibits FSH-Effects of Steroids and Prostaglandins on Serum FSH and LH Levels.
Steroids 21, 703-722 (1973b)

SZENTAGOTHAI, J., B. FLERKÓ, B. MESS and B. HALÁSZ:
Hypothalamic control of the anterior pituitary, 3rd ed.
Akadémiai Kiadó, Budapest (1968)

VANDENBERG,G., G. DeVANE and S.S.C. YEN:
Effects of exogenous estrogen and progestin on pituitary responsiveness to synthetic luteinizing hormone-releasing factor.
J.Clin. Invest 53, 1750 (1974)

VERJANS, H.L., K.B. EIK-NESS, J.H. AAFJES, F.J.M. VELS and VAN DER MOLEN,H.J.:
Effects of Testosterone Propionate, 5a-Dihydrotestosterone Propionate and Oestradiol Benzoate on Serum Levels of LH and FSH in the Castrated Adult Male Rat.
Acta endocr. (Kbh.) 77, 643-654 (1974)

WANG, C.F., B.L. LASLEY, A. LEIN and S.S.C. YEN:
The functional changes of the pituitary gonadotrophs during the menstrual cycle.
J.Clin. Endocrinol. Metab. 42, 718 (1976)

WATANABE, S. & S.M. McCANN:
Alterations in pituitary follicle-stimulation hormone (FSH) and hypothalamic FSH-releasing factor (FSH-RF) during puberty.
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 132, 195-201 (1969)

WEICK, R.F. and J.M. DAVIDSON:
Localization of the stimulatory feedback effect of estrogen on ovulation in the rat.
Endocrinology 87, 693-700 (1970)

YAMAMOTO, M., N.D. DIEBEL and E.M. BOGDANOVE:
Analysis of Initial and Delayed Effects of Orchidectomy and Ovariectomy on Pituitary and Serum LH-Levels in Adult and Immature Rats.
Endocrinology 86, 1102-1111 (1970).

YEN, S.S.C., G. VANDENBERG and T.M. SILER:
Modulation of pituitary responsiveness to LRF by estrogen.
J.Clin. Endocrinol. Metab. 39, 170 (1974)

YEN, S.S.C., B.L. LASLEY, C.F. WANG and T.M. SILER:
The operating characteristics of the hypothalamic-pituitary system during the menstrual cycle and observations of biological action of somatostatin.
Recent Prog.Horm. Res. 31, 321 (1975)

Lebenslauf

Am 2. März 1956 wurde ich, Susanne Walz, als Tochter des Technikers Hans Walz und seiner Ehefrau Emma geb. Bayerle in Stuttgart geboren.

1962 trat ich in die Grundschule ein und besuchte ab 1966 das Königin-Charlotte-Gymnasium in Stuttgart, von dem ich 1968 auf das Hermann-Hesse-Gymnasium in Calw wechselte. Dort legte ich 1975 die Reifeprüfung ab.

Im Sommersemester 1976 begann ich mit dem Medizinstudium in Tübingen. Mit der ärztlichen Vorprüfung schloß ich 1978 den vorklinischen Teil meiner Ausbildung ab.

Nach dem ersten Staatsexamen im Sommer 1979 begann ich mit meiner Dissertationsarbeit. Das zweite Staatsexamen bestand ich im Frühjahr 1981.

Seit April 1981 arbeite ich als Internatsstudentin im Städtischen Krankenhaus in Sindelfingen.

Mein Medizinisches Staatsexamen legte ich am 26.4.1982 ab.